

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ
И ГИГИЕНЫ**

**Материалы IX Всероссийской научно-практической
конференции молодых ученых и специалистов
Роспотребнадзора**

(Иркутск, 5–7 декабря 2017 г.)

УДК 613/614 (082)
ББК 51.2+52.5
С56

Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Иркутск, 5–7 декабря 2017 г.) / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой. – Иркутск: ИНЦХТ, 2017. – 174 с.

ISBN 978-5-98277-249-7

Данный сборник включает публикации участников IX Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов из различных регионов Российской Федерации, а также Вьетнама.

Спектр публикаций достаточно широк и посвящен актуальным проблемам эпидемиологии, микробиологии и иммунологии инфекций, разработке способов и средств их профилактики, анализу профессиональных заболеваний, а также оценке воздействия на здоровье человека негативных бытовых и производственных факторов, вопросам формирования здоровой среды обитания человека. Все публикации объединяет направленность на практическое использование результатов проведенных исследований в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Издание предназначено для специалистов в области эпидемиологии, микробиологии, иммунологии и гигиены.

Материалы конференции опубликованы в авторском изложении. Авторы несут ответственность за точность приведенных фактов, цитат и прочих сведений.

Члены редколлегии:

доктор медицинских наук, профессор А.Ю. Попова
доктор медицинских наук, профессор С.В. Балахонов
доктор медицинских наук, профессор М.В. Чеснокова
доктор медицинских наук Е.И. Андаев
доктор биологических наук В.И. Дубровина
кандидат медицинских наук С.А. Витязева
кандидат медицинских наук И.З. Мустафина

Все права защищены. Воспроизведение всей книги или любой ее части любыми средствами и в какой-либо форме, в том числе в сети Интернет, запрещается без письменного разрешения владельца авторских прав.

ISBN 978-5-98277-249-7



© ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора», 2017
© ФГБУ «ИНЦХТ», 2017

СОДЕРЖАНИЕ

Приветственное слово руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю. Поповой	9
Адугюзелов С.Э., Острик А.А. Противодифтерийные антитоксические антитела у лиц старше 50 лет	11
Алексейчик И.О., Смелянский В.П., Путинцева Е.В., Бородай Н.В., Лемасова Л.В. Завозные случаи лихорадки денге в Волгограде	12
Ализаде Ю.С. Медико-социальные последствия заболеваний голоса у лиц педагогических профессий как предмет прикладных исследований в гигиенической науке	13
Аликберов М.Х. К вопросу о риске развития кариеса твердых тканей зубов у детского и подросткового населения Республики Дагестан	14
Аликберов М.Х., Бахмудов Г.Г. О риске развития эндемических заболеваний у населения на различных территориях Республики Дагестан	15
Антипова О.В., Быстрова Т.Н. Распространенность маркеров инфицирования вирусом гепатита С среди пациентов учреждений родовспоможения	16
Антонов А.С., Устинов Д.В., Виу Т.Л.А., Тетерятникова Н.Н., Ngo Т.Н., Шпак И.М., Захарова И.Б. Мультилокусное сиквенс-типирование изолятов <i>Burkholderia pseudomallei</i> , выделенных на территории Вьетнама	18
Бадамшина Г.Г., Зиатдинов В.Б., Исаева Г.Ш., Ставропольская Л.В., Валеев А.А., Халдеева Е.В., Глушко Н.И., Кириллова М.А., Земскова С.С. Особенности контаминации грибами-микросциетами воздушной среды медицинских учреждений	19
Байдакова Е.В., Унгурияну Т.Н. Оценка микробиологического качества питьевой воды после водоподготовки и в распределительной сети на территориях с различными типами водисточников	20
Баязитова А.А. Спектр возбудителей онихомикозов среди жителей города Казани	22
Болотова Н.А., Хаснатинов М.А., Манзарова Э.Л., Данчинова Г.А. Репродукция вируса клещевого энцефалита в культуре клеток <i>Arodemus peninsulae</i> как модель протекания инфекции у естественных хозяев вируса	23
Бондарева О.С., Леденева М.Л., Лемасова Л.В., Ткаченко Г.А. Выбор оптимального набора VNTR-локусов для MLVA-типирования штаммов <i>Burkholderia mallei</i>	24
Борисенко А.Ю., Кузьминова В.А. Биоинформационный скрининг бактериофагов через спейсерные сайты CRISPR/Cas-системы штаммов <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Бочалгин Н.О., Миронова Л.В. Филогенетический анализ штаммов <i>Vibrio cholerae</i> , выделенных из объектов окружающей среды в Сибири и на Дальнем Востоке	27
Бутакова Л.В., Сапега Е.Ю., Троценко О.Е., Курганова О.П., Пережогин А.Н., Горяев Д.В., Дмитриева Г.М. Международный туризм как один из факторов риска осложнения эпидемиологической ситуации по энтеровирусной инфекции	28
Ваганова А.Н., Заручейнова О.В., Савельева Е.Л., Фрейлихман О.А., Вербов В.Н. Выявление <i>Mycoplasma hominis</i> с помощью ПЦР в генитальных мазках, при посеве которых на среду для выявления данного патогена был получен отрицательный результат	29
Вещемова Т.Е. Методические подходы к выявлению и классификации веществ по мутагенному действию	30
Виноградова А.И. Создание единой информационной базы данных инсектицидных средств	31
Вишняков В.А., Куликалова Е.С., Шаракшанов М.Б., Хунхеева Ж.Ю., Урбанович Л.Я., Пономарева А.С., Басов Е.А. Опыт участия консультантов-наблюдателей от Иркутского противочумного института в тренировочных учениях по вводу на борт воздушного судна условного больного с подозрением на опасную инфекционную болезнь в воздушном пункте пропуска аэропорта г. Иркутск (2011–2017 гг.)	32

Водянова М.А., Евсеева И.С., Кузнецова К.Ю., Цапкова Н.Н. Оценка загрязненности почв города Москвы по санитарно-паразитологическим показателям	34
Воронина Е.В., Талаева М.В., Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Заиченко И.Е. Эспрессия хемокиновых рецепторов на классических дендритных клетках крови человека, стимулированных вакцинами <i>in vitro</i>	35
Воронина Е.В., Талаева М.В., Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Заиченко И.Е., Талаева Е.Б. Характеристика циркулирующих CCR6+ и CCR9+ Т-хелперов при болезни Крона	38
Войткова В.В., Корытов К.М., Корнева А.В., Дубровина В.И. Оценка клеточного звена иммунитета белых мышей, иммунизированных клеточными оболочками <i>Francisella tularensis</i> разных подвидов	40
Генералов С.В., Гаврилова Ю.К., Киреев М.Н., Гаева А.В., Абрамова Е.Г. Выделение и очистка нуклеопротеина вируса бешенства	41
Гольдапель Э.Г., Дугаржапова З.Ф., Чеснокова М.В., Морозова С.И., Кузин Д.Ю., Алленов А.В. Эпизоотолого-эпидемиологические проявления сибирской язвы в Приморском крае в 1919–2016 гг.	42
Гольдапель Э.Г., Такайшвили В.Е., Вишняков В.А., Иванова А.А. Влияние эуфиллина на герминацию и рост сибиреязвенного микроба	43
Громова А.В., Ноздрин Г.А. Корректирующее действие микробиологических препаратов на иммунный статус экспериментальных животных	45
Дерябин А.Н. Загрязнение почвы Архангельской области биологическими агентами	46
Дмитриева Г.М., Орешкина Н.Д., Русин М.В. Региональные особенности потенциальных эпидемиологических рисков в период проведения Универсиады-2019	48
Дмитрюкова М.Ю. Изменчивость генома вируса папилломы человека 16 типа и риск развития рака шейки матки	49
Дуракова О.С., Громова О.В., Ливанова Л.Ф., Авдеева Н.Г., Гаева А.В., Киреев М.Н. Скрининг штаммов-продуцентов по показателю активности холерного токсина методами <i>in vitro</i>	50
Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Мишанькин Б.Н., Шипко Е.С. Анализ белков наружных мембран холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп с помощью моноклональных антител	51
Ермоленко К.Д., Закревская А., Куляшова Л., Рощина Н. Противогерпетические эффекты энтероцинов	52
Ермолова Н.В., Лазаренко Е.В., Медяник И.М. Результаты энтомологического мониторинга за кровососущими комарами на территории западной части черноморского побережья Краснодарского края в 2017 году	53
Жильцова А.Ю., Герасименко Е.В. Результаты энтомологического мониторинга за комарами <i>Aedes albopictus</i> на территории Республики Абхазия в июле 2017 года	54
Замарина Т.В., Ханани Е.И., Голосеев Ю.А. Оптимизация метода очистки иммунопероксидазных конъюгатов на основе мелиоидозных моноклональных антител	55
Захаров М.В. Современные подходы к конструированию антигенных полимерных листериозных диагностикумов при заболевании листериозом у людей	55
Захаров М.В., Писанов Р.В., Симакова Д.И. Исследование спектра жирных кислот бактерий вида <i>Listeria monocytogenes</i>	57
Зеликман С.Ю., Березкина Г.В. Оценка вклада бартонелл в инфекционную патологию населения Омской области	58
Зибарев Е.В., Афанасьев А.С. Разработка геоинформационного портала для учета источников ЭМИ РЧ от передающих радиотехнических объектов	59
Имангалиев Б.С., Улитко М.В. Биологическое влияние наночастиц железа на жизнедеятельность дермальных фибробластов человека	60
Калинин А.В. Экологические аспекты проблемы сибирской язвы	61

Канаева О.И. Подъемы заболеваемости энтеровирусной инфекцией на ряде территорий Российской Федерации в 2016 году	63
Каримов Д.О., Кудояров Э.Р., Каримов Д.Д., Смолянкин Д.А., Репина Э.Ф., Мышкин В.А., Бакиров А.Б. Анализ репарационной активности пиримидинов	64
Карцев Н.Н. Использование веб-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» для изучения генома <i>Escherichia coli</i>	65
Киселев Д.О., Джиоев Ю.П., Степаненко Л.А., Семенов А.В., Бадмаев А.А., Букин Ю.С., Злобин В.И. Изучение внутривидового генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и других клещевых инфекций в природных очагах Прибайкалья	67
Комарова С.В., Вуйцик П.А. Влияние образа жизни на развитие ожирения среди водителей	68
Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Тагызова С.Л., Балахонов С.В. Серологический мониторинг у людей, вакцинированных против чумы и проживающих в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы	69
Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Русанова Д.В. Применение методов анализа антигенреактивности клеток <i>in vitro</i> для диагностики бруцеллеза	70
Котенева Е.А. Основные тенденции использования MALDI-ToF масс-спектрометрии в работе микробиологических и клинических лабораторий	72
Котенева Е.А., Калинин А.В., Цыганкова О.И. Возможность применения MALDI-ToF MS технологии в определении индивидуальных особенностей штаммов <i>Bacillus anthracis</i>	73
Кошурников Д.Н., Балашов С.Ю., Бухаринов А.А. Геоинформационные системы как инструмент гигиенической оценки воздействия техногенного шума внешней среды в условиях плотной городской застройки	75
Крылова И.В., Потапова И.А. Разработка метода определения витамина К1 в растительных продуктах с целью снижения риска развития К-витаминной недостаточности у населения ...	76
Кряжев Д.В. Чувствительность к дезинфектантам у штаммов коагулазоотрицательных стафилококков, циркулирующих в детском стационаре Нижнего Новгорода	78
Куликалова Е.С., Первалова М.А., Мазепа А.В., Сынгеева А.К., Балахонов С.В. Эпидемиологические аспекты туляремии в Сибирском, Дальневосточном и некоторых субъектах Уральского федеральных округов (2005 по 2016 гг.)	79
Курилов М.В., Даукаев Р.А., Каримов Д.О., Бакиров А.Б. Определение качества соковой продукции ..	81
Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б. Случаи единичных выделений нетоксигенных штаммов <i>Vibrio cholerae</i> O1 из водных объектов на различных территориях России с 1989 по 2016 гг.	82
Леонтьева С.А., Брагина Е.А., Степанова Т.Ф. Носительство антигена возбудителя туляремии у мелких млекопитающих на полевом стационаре в Нижнетавдинском районе Тюменской области	83
Лихачев И.В. Разработка набора реагентов для фенотипической детекции бета-лактамаз расширенного спектра действия	84
Логвин Ф.В., Кондратенко Т.А., Водяницкая С.Ю., Рыжова А.А., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Баташев В.В., Жилин В.Г., Швагер М.М. Результаты комплексной оценки территории Ростовской области по сибирской язве по степени эпизоотолого-эпидемиологической опасности	85
Лучинин Д.Н. Формирование реестра дезинфицирующих средств, рекомендованных для обеззараживания объектов, контаминированных возбудителями особо опасных инфекций ...	86
Молчанова Е.В. Направления совершенствования коллекционной деятельности в рамках паспортизации штаммов патогенных буркхольдерий ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора	87
Морозов И.М., Вержуцкая Ю.А., Никитин А.Я. Гомологическая изменчивость экзоскелета <i>Ixodes persulcatus</i> и <i>Ixodes pavlovskyi</i> в зоне симпатрии	89

<i>Негоденко А.О., Храпова Н.П.</i> Применение dot-иммуноферментного анализа в лабораторной диагностике мелиоидоза	90
<i>Незнамова А.В., Агеева Н.П.</i> Использование автоматического гематологического анализатора для исследования крови лабораторных животных	91
<i>Носков А.К., Вишняков В.А., Первалова М.А., Шаракшанов М.Б., Балахонов С.В.</i> Рискологический подход к оценке эпидемиологических последствий чрезвычайных ситуаций природного характера ..	92
<i>Носов Н.Ю.</i> Молекулярно-генетический анализ штаммов <i>Yersinia pestis</i> средневекового биовара из природных очагов Российской Федерации и стран СНГ	94
<i>Охлопкова О.В., Сафатов А.С., Андреева И.С., Резникова И.К., Буряк Г.А., Теплякова Т.В., Мусеева А.А., Симоненков Д.В.</i> Изучение биоаэрозоля в приземном слое атмосферы севера Западносибирского региона	95
<i>Перетолчина Н.П.</i> Сравнительный анализ CRISPR-локусов штаммов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , циркулирующих на территориях Сибири и Дальнего Востока	97
<i>Петрова О.А., Любимова Н.Е., Стоянова Н.А., Токаревич Н.К., Толоян А.А.</i> Цитокины как биомаркеры тяжести течения лептоспирозной инфекции	98
<i>Пивнева О.С., Мелентьев А.В.</i> Особенности гигиенического нормирования пестицидов в водных объектах	99
<i>Пименов Н.Н., Чуланов В.П.</i> Современная эпидемиологическая характеристика хронического гепатита С и его исходов в Российской Федерации	100
<i>Погожова М.П., Романова Л.В., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В.</i> Исследование ДНК фагов параземолитических и холерных вибрионов в ОППЦР	102
<i>Пономарева А.С., Гладких А.С., Миронова Л.В.</i> Метагеномный анализ микробных сообществ водоемов Иркутской области и Забайкальского края в местах ежегодного выделения <i>Vibrio cholerae</i>	103
<i>Прислегина Д.А.</i> Современные клинко-эпидемиологические особенности и новый подход к прогнозированию Крымской геморрагической лихорадки в Ставропольском крае	104
<i>Пятидесятникова А.Б., Баранникова Н.Л., Юрьева О.В., Дубровина В.И.</i> Оценка антиоксидантного статуса экспериментальных животных, иммунизированных препаратами <i>Brucella abortus</i> И-206 в S- и L-формах	106
<i>Райкин С.С.</i> Влияние вибрации на здоровье механизаторов Саратовской области	108
<i>Ребещенко А.П., Катаева Л.В.</i> Видовой пейзаж и антибиотикорезистентность энтерококков, выделенных в учреждениях родовспоможения г. Тюмени	109
<i>Рыковская О.А., Полеева М.В., Чемисова О.С.</i> Изучение препарата термостабильного прямого гемолизина (TDH) <i>Vibrio parahaemolyticus</i> методом MALDI-ToF масс-спектрометрии	110
<i>Савельева И.В., Куличенко А.Н.</i> Холера Эль Тор на современном этапе седьмой пандемии: мировое распространение, эволюция возбудителя, клинко-эпидемиологические особенности, лабораторное обеспечение эпидемиологического надзора	111
<i>Савина Е.В., Новицкая И.В., Кулаков М.Я., Татаренко Ю.С.</i> Совершенствование подходов к конструированию сапного эритроцитарного иммуноглобулинового моноклонального диагностикума .	113
<i>Савченко А.П., Пичурина Н.Л., Забашта М.В., Орехов И.В., Романова Л.В., Бородина Т.Н.</i> Существование природных очагов инфекций на урбанизированных территориях (на примере иксодового клещевого боррелиоза)	114
<i>Сахарнов Н.А., Князев Д.И., Солнцев Л.А., Кулова Е.А., Уткин О.В.</i> Особенности экспрессии мРНК генов сигнальных путей апоптоза и выживания с участием рецептора смерти FAS у детей с ВЭБ- и ЦМВ-опосредованным мононуклеозом до и после терапии	116
<i>Сахарнов Н.А., Князев Д.И., Солнцев Л.А., Кулова Е.А., Уткин О.В.</i> Анализ экспрессии мРНК генов FAS-зависимого сигналинга, направляющих клетку по пути пролиферации и выживания, у детей с инфекционным мононуклеозом до и после терапии	117
<i>Сахаров К.А., Андреев С.В., Шестопалова Т.Н., Мельникова Г.Н., Скопин А.Ю.</i> Устройство для обеззараживания рук	118

Сачивкина Н.П. Новые опасные парамиксовирусы	120
Сашина Т.А., Мигунова Т.А., Морозова О.В., Новикова Н.А. Молекулярное разнообразие ротавирусов генотипа G9P[8] по гену энтеротоксина NSP4	121
Севостьянова А.В., Сапега Е.Ю., Бутакова Л.В., Гаврилова Т.А., Хакимова М.И., Казанова В.Б., Верховзина М.М. Завоз эпидемически значимых энтеровирусов в Иркутскую область из зарубежных стран	122
Серов А.А. Изучение чувствительности штаммов госпитальных микроорганизмов к дезинфицирующим средствам	124
Сизова Ю.В. Изучение свойств холерных вибрионов под влиянием кислой среды желудка	124
Сидорова Е.А., Адельшин Р.В., Дмитриева Г.М., Кострыкина Т.В., Горяев Д.В., Сорокина О.В., Филатова С.А., Чепижко Т.Г., Мошкин А.Б. Клинико-эпидемиологические особенности клещевого вирусного энцефалита с летальным исходом в Красноярском и Забайкальском краях и молекулярно-генетическая характеристика возбудителя	126
Симакова Д.И., Полеева М.В., Чемисова О.С. Типирование штаммов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии	128
Солнцев Л.А., Филатова Е.Н. Опыт применения метода декомпозиции для улучшения качества моделирования и прогнозирования уровня инфекционной заболеваемости	129
Соломенцев В.И., Кисличкина А.А., Кадникова Л.А., Майская Н.В., Богун А.Г., Анисимов А.П. Полногеномное секвенирование штаммов <i>Yersinia pestis</i> , депонированных в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ Оболенск»	130
Старчевская М.Е., Непомнящих Т.С., Якубицкий С.Н., Таранов О.С., Антонец Д.В., Щелкунов С.Н. Изучение продукции рекомбинантного интерлейкин-1-связывающего белка вируса оспы коров <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	131
Степанова А.Э. Анализ и прогноз эпидемий ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С в Новосибирской области	132
Султанова А.Р. Эпизоото-эпидемиологическая ситуация по бешенству в Республике Башкортостан	133
Сынгеева А.К., Куликалова Е.С., Гольдапель Э.Г., Мазепа А.В. Детекция и секвенирование генов хитиназ <i>chiA</i> и <i>chiC</i> <i>Francisella tularensis</i>	135
Такайшвили В.Е., Дугаржапова З.Ф., Кравец Е.В., Балахонов С.В. Экологический и микробиологический мониторинг сибирской язвы на территории Сибири и Дальнего Востока	136
Талаева М.В., Воронина Е.В., Талаев В.Ю., Лебедев М.Ю., Живцов О.П., Заиченко И.Е., Бабайкина О.Н. Характеристика субпопуляций классических дендритных клеток крови при остеомиелите ...	137
Точилина А.Г., Белова И.В., Соловьева И.В. Анализ генома производственного штамма <i>Escherichia coli</i> М-17	140
Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П. Экспериментальное применение смеси холерных бактериофагов для профилактики холеры	141
Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В. MALDI-ToF MS исследование особенностей белковых профилей крови больных бруцеллезом людей	142
Устинов Д.В., Антонов А.С., Вуй Т.Л.А., Тетерятникова Н.Н., Ngo T.N., Шпак И.М., Захарова И.Б. Высокопроизводительное секвенирование штамма <i>Burkholderia thailandensis</i> , выделенного на территории Вьетнама в 2016 году	144
Фесенко М.А., Никифорова В.А., Буланова М.И., Хетагова К.В. Влияние сменной работы на репродуктивное здоровье женщин	145
Филатова Е.Н., Анисенкова Е.В., Преснякова Н.Б., Уткин О.В. Оптимизация протокола нокдауна гена DR3 в первичной культуре мононуклеарных клеток периферической крови человека	147
Фролов Д.М., Замарина Т.В., Сенина Т.В., Ханани Е.И. Реакция агглютинации на стекле с применением моноклональных антител для идентификации возбудителя мелиоидоза	148

<i>Хвойнова Е.Г., Токмакова Е.Г., Захлебная О.Д., Витязева С.А., Балахонов С.В.</i> Изучение антибиотико-чувствительности коллекционных штаммов <i>Yersinia pestis</i> в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге	149
<i>Хромова П.А., Федотова Я.С., Леонова В.С., Корнилов М.С.</i> Анализ распространения штаммов <i>Mycobacterium tuberculosis</i> на территории Приморского края	150
<i>Хуторянина И.В., Твердохлебова Т.И., Димидова Л.Л.</i> Роль санитарно-паразитологического мониторинга сточных вод и их осадков	151
<i>Черепанова Е.А., Симонова Е.Г.</i> Современная эпидемиологическая ситуация по некоторым острым кишечным инфекциям, актуальным для Российской Федерации	153
<i>Чехляева Т.С., Шульга С.В., Урбан Ю.Н., Цвиркун О.В., Мамаева Т.А., Наумова М.А., Тихонова Н.Т.</i> Корь в России, данные генетического мониторинга циркуляции вируса за 2015–2017 гг.	154
<i>Шарабрин С.В.</i> Расчет численности репрезентативной выборки для мониторинга циркуляции НПЭВ среди здорового населения в условиях мегаполиса	156
<i>Шахов Л.О., Жуков К.В., Смелянский В.П.</i> Завозные случаи лихорадки Зика в мире и Российской Федерации	157
<i>Шипелин В.А., Кудан П.В., Згода В.Г., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А.</i> Эффекты воздействия наночастиц серебра <i>in vivo</i> . Анализ на протеомном уровне	158
<i>Шкарлет Г.П., Евченко Ю.М., Мозлов Г.А.</i> К вопросу о прогнозировании эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы	160
<i>Штрек С.В., Рудаков Н.В., Березкина Г.В., Самойленко И.Е., Кумпан Л.В., Решетникова Т.А., Абрамова Н.В.</i> Использование различных методов для выявления антител к риккетсиям группы клещевой пятнистой лихорадки у пациентов после присасывания иксодовых клещей в Омской области	162
<i>Юдаева О.С.</i> Мероприятия по обеспечению безопасных условий труда проводников пассажирских вагонов	163
<i>Юдаева О.С., Королева А.М.</i> Влияние цвета в пассажирских вагонах на психофизиологическое состояние пассажиров и поездных бригад	164
<i>Юдаева О.С., Аксельрод В.А., Алехин С.Ю., Семенов И.А.</i> Результаты подконтрольной эксплуатации санитарно-технических систем пассажирских вагонов в зимний период	167
<i>Юдаева О.С., Аксенов В.А., Аксельрод В.А., Алехин С.Ю., Канунников О.В.</i> Обеспечение единого регламента жизненного цикла санитарно-технических систем, установленных на подвижном составе	168
<i>Яковчиц Н.В., Адельшин Р.В., Мельникова О.В., Носков А.К., Ботвинкин А.Д., Андаев Е.И.</i> Молекулярная эпидемиология вируса бешенства на территории Сибири	169
<i>Авторский указатель</i>	171

ПРИВЕТСТВЕННОЕ СЛОВО РУКОВОДИТЕЛЯ ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА А.Ю. ПОПОВОЙ УЧАСТНИКАМ IX ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ РОСПОТРЕБНАДЗОРА «СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ И ГИГИЕНЫ»



Уважаемые коллеги!

Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» – особое событие для нашей Службы, тем более знаменательно, что конференция проходит в юбилейный год создания санитарно-эпидемиологической службы страны. Ровно 95 лет назад, 15 сентября 1922 года, был подписан Декрет Совета народных комиссаров РСФСР «О санитарных органах республики». Пройден сложный путь развития и становления Службы, и сегодня она приобрела статус федерального органа исполнительной власти, находящегося в ведении Правительства Российской Федерации.

В настоящее время перед Россией и перед всем миром стоят масштабные вызовы технологического развития, необходимости обеспечения экологической, биологической, продовольственной безопасности. Характер и сложность этих задач таковы, что решать их можно только с помощью сильной науки и современных технологий. На протяжении последних лет Роспотребнадзор реализует стратегическую задачу управления рисками санитарно-эпидемиологического характера в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и сохранения здоровья населения, что требует опережающей работы от научного сообщества.

Научные организации Службы ориентированы на разработку и реализацию передовых информационных, прогнозно-аналитических, диагностических, профилактических технологий. Для решения этих важных задач необходимо обеспечение комплексного подхода при планировании и проведении прикладных, фундаментальных, в том числе поисковых, исследований в сфере эпидемиологии, микробиологии, иммунологии и гигиены, внедрение полученных результатов в практическую деятельность учреждений здравоохранения.

Актуально усилие международного сотрудничества по вопросам эпидемиологического надзора и контроля, санитарной охраны территории, создание и совершенствование системных основ предупреждения и ликвидации ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия.

Современная наука, базирующаяся на принципах постоянного инновационного развития, нуждается в расширении участия молодых ученых в научных исследованиях, опирающихся на фундаментальную науку. Для нашей Службы стало традиционным проведение ежегодных научно-практических конференций молодых ученых – своеобразного смотра молодых творческих сил научно-исследовательских организаций Роспотребнадзора, где талантливые и перспективные молодые специалисты могут поделиться своими научными идеями и достижениями, обменяться опытом с коллегами в неформальном общении. Совместное обсуждение проблем и получение одобрения старшего поколения позволят повысить профессиональный уровень молодых сотрудников, эффективно взаимодействовать в решении сложных задач по научному обеспечению деятельности санитарно-эпидемиологической службы страны.

Сегодня развиваются перспективные направления научных исследований, актуальные для практической деятельности Роспотребнадзора, такие как оценка и управление рисками здоровью населения; внедрение геоинформационных технологий; развитие системы центров мониторинга возбудителей инфекционных и паразитарных болезней; изучение особенностей генома возбудителей инфекционных

болезней, связанных с их вирулентностью и патогенностью, с целью создания новых методов профилактики и лечения инфекционных и паразитарных болезней; создание и производство диагностических, лекарственных препаратов на основе новейших достижений био- и нанотехнологий; разработка алгоритмов лабораторной диагностики возбудителей инфекционных болезней на основе широкого внедрения молекулярно-биологических методов в формате мультиплексного анализа, масс-спектрометрии, планарных суспензионных и тканевых микрочипов; совершенствование научных и методических основ биобезопасности; системы противоэпидемических мероприятий при чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера; разработка стратегии и тактики применения методов и средств неспецифической профилактики.

Именно вам предстоит воплотить их в своей научной деятельности, направленной на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения России. Молодые ученые уже вносят свою лепту в получение новых знаний, предлагают немало оригинальных решений. Доказательство тому – научные работы, которые будут представлены и обсуждены на нашей конференции. Уверена, что среди многообразия тем и докладов конференции, в рамках интересных и плодотворных дискуссий, вы откроете новое и полезное для своей научной и практической деятельности.

Желаю успеха участникам конференции.

*Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный
санитарный врач Российской Федерации,
д.м.н., профессор*

А.Ю. Попова

ПРОТИВОДИФТЕРИЙНЫЕ АНТИТОКСИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА У ЛИЦ СТАРШЕ 50 ЛЕТ

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора,
Москва

В Российской Федерации наблюдается благополучная эпидемиологическая ситуация по дифтерийной инфекции, ежегодно регистрируются единичные случаи заболевания и носительства. В 2016 г. зарегистрировано два больных дифтерией и два бактерионосителя возбудителя этой инфекции. Благополучие по дифтерии определяется высоким уровнем популяционного антитоксического противодифтерийного иммунитета.

Однако, по данным серомониторинга сывороток крови индикаторных групп населения, проводимого в системе эпидемиологического надзора с помощью реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), в последние годы прослеживается тенденция снижения напряженности иммунитета у взрослых людей старше 50 лет.

Целью работы явилась оценка уровня противодифтерийных антитоксических антител у лиц старше 50 лет с помощью двух методов: иммуноферментного анализа (ИФА) и РПГА.

Обследовано 164 человека от 50 до 85 лет, обратившихся в консультативно-диагностический центр МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского в 2009 и в 2016 гг. (90 и 74 человека соответственно). Обследование проводили без учета данных о прививках. Для определения антител класса IgG в ИФА использовали тест-систему «Euroimmune», Германия. Концентрацию антител, выявленных в ИФА, определяли в Международных единицах (МЕ/мл). Оценку уровней антител осуществляли согласно инструкции к тест-системе. Количество антител меньше 0,1 МЕ/мл свидетельствовало о недостаточном уровне защиты, 0,1–1,0 МЕ/мл – о наличии защитного уровня, больше 1 МЕ/мл – о наличии высокого защитного уровня.

РПГА проводили при использовании эритроцитарного дифтерийного диагностикума производства НПО «Биомед им. И.И. Мечникова». Результаты РПГА учитывали в титрах. Оценку уровней антител осуществляли согласно МУ 3.1.2943-11 «Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)». Титр 1:10 и ниже свидетельствовал об отсутствии защитного уровня антител, титр 1:20–1:40 расценивали как низкий защитный уровень, 1:80–1:160 – средний защитный уровень, 1:320 и выше – высокий защитный уровень.

Индикаторную группу (по МУ 3.1.2943-11) 50–59 лет в нашем исследовании представляли 77 человек, индикаторную группу 60 лет и старше – 87 человек. Результаты показали, что эти две группы различаются по удельному весу лиц, не имеющих защитного уровня противодифтерийных антитоксических антител. За оба года наблюдения по данным ИФА в группе 50–59 лет таких лиц было 16,9 %, в группе 60 лет и старше – 36,8 %; по данным РПГА – 9,1 и 32,2 % соответственно (различия статистически достоверны при $p < 0,05$). Иными словами, по сравнению с возрастной группой 50–59 лет среди лиц 60 лет и старше незащищенных против дифтерии было в 2,2 раза больше по данным ИФА и в 3,5 раза больше – по данным РПГА.

Обнаружено увеличение доли незащищенных от дифтерии лиц старше 50 лет во временной динамике. Так, по данным ИФА в 2009 г. таких лиц было 12,2 %, а в 2016 г. – 45,9 %; по данным РПГА – 11,1 и 33,8 % соответственно (различия статистически достоверны при $p < 0,05$). Таким образом, в 2016 г. по сравнению с 2009 г. увеличилось количество незащищенных от дифтерии лиц в 3,8 раза по данным ИФА и в 3,1 раза – по данным РПГА.

Оценка изменения напряженности иммунитета во временной динамике проведена по данным РПГА при сравнении с результатами серомониторинга, полученными в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве» Роспотребнадзора, представленными в референс-центр по мониторингу возбудителя дифтерии при МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Доля лиц, имеющих высокий и средний уровень защиты по нашим данным в 2009 г. составила 78,9 %, в 2016 г. – 52,7 %; по данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве» Роспотребнадзора – 66,3 и 43,3 % соответственно (различия статистически достоверны при $p < 0,05$). При этом установлено, что доля лиц, защищенных от дифтерии на высоком и среднем уровне в 2016 г. снизилась по сравнению с 2009 г. в 1,5 раза по данным двух независимых исследований. Такая же тенденция прослеживается и по результатам ИФА: доля лиц с защитным и высоким уровнем антител в 2009 г. составила 87,8 %, в 2016 г. – 56,8 %, что демонстрирует снижение напряженности иммунитета в 1,5 раза.

В нашем исследовании использовано два метода для выявления противодифтерийных антитоксических антител. Метод ИФА, как правило,

показывал более низкие количества антител по сравнению с РПГА, что объясняется, прежде всего, выявлением в ИФА антител определенного класса – IgG, вносящих основной вклад в противоионную защиту. Полуколичественный метод РПГА определяет суммарное количество антител разных классов.

Вместе с тем, выявлены общие тенденции в оценке противодифтерийного антитоксического иммунитета у лиц старше 50 лет. Количество незащищенных от дифтерии достоверно больше среди лиц старше 60 лет, чем среди лиц 50–59 лет. Обращает внимание высокая доля незащищенных среди лиц старше 60 лет.

В 2016 г. по сравнению с 2009 г. произошло увеличение количества незащищенных от дифтерии лиц старше 50 лет и отмечено снижение уровня напряженности антиоксического иммунитета среди лиц этой возрастной группы, имеющих защитный уровень антител.

В целом результаты настоящей работы подтвердили тенденцию снижения уровня популяционного иммунитета среди старших возрастных групп населения, выявленную при проведении серомониторинга в субъектах Российской Федерации, что требует пристального внимания к проведению вакцинопрофилактики взрослых согласно Национальному календарю прививок.

**АЛЕКСЕЙЧИК И.О., СМЕЛЯНСКИЙ В.П., ПУТИНЦЕВА Е.В., БОРОДАЙ Н.В.,
ЛЕМАСОВА Л.В.**

ЗАВОЗНЫЕ СЛУЧАИ ЛИХОРАДКИ ДЕНГЕ В ВОЛГОГРАДЕ

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Интенсификация миграционных процессов и развитие массового туризма вызывают особую настороженность специалистов органов здравоохранения, которая связана с появлением экзотических зоонозных вирусных инфекций из тропических и субтропических стран мира на неэндемичных территориях. В настоящее время одной из основных проблем международного общественного здравоохранения стала лихорадка денге (ЛД), которая в последнее десятилетие квалифицируется ВОЗ как самое быстро распространяющееся тропическое заболевание, представляющее реальную эпидемиологическую угрозу.

Лихорадка денге (ЛД) (суставная лихорадка, пятнадцатидневная лихорадка, лихорадка жирафов, костоломная лихорадка, финиковая болезнь) – арбовирусная инфекция из группы геморрагических лихорадок широко распространенная в тропических и субтропических регионах. Возбудителем является РНК-содержащий вирус из семейства *Flaviviridae* рода *Flavivirus*, относящийся ко II группе патогенности. Источником заболевания, кроме человека, могут быть обезьяны и, возможно, летучие мыши. Границы современного распространения вируса, вызывающего ЛД, определяются ареалом переносчиков (комары *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus*). Инкубационный период ЛД длится от 3 до 15 дней (чаще 5–7 дней). Проявляется внезапным подъемом температуры до 40 °С, которая держится до 4 дней, головной болью, сильными болями в суставах и мышцах, иногда появляется сыпь. Кроме классической формы ЛД, которая имеет, как правило, благоприятный исход, выделяют геморрагическую

форму – потенциально смертельное осложнение, характеризующееся развитием дыхательной недостаточности, сильным кровотечением и поражением органов.

Более 70 % бремени ЛД приходится на Юго-Восточную Азию и Западную часть Тихого океана. За последние годы быстро возросла заболеваемость и степень тяжести этой болезни в Латинской Америке и странах Карибского бассейна. Специалисты туристических агентств отмечают: с каждым годом среди российских туристов растет популярность отдыха в Юго-Восточной Азии. В последние годы в Российской Федерации завозные случаи ЛД регистрируются преимущественно у туристов, посетивших страны данного региона.

Целью работы являлась оценка клинико-эпидемиологических аспектов завозных случаев лихорадки денге в Волгограде.

Исследование проводилось эпидемиологическим методом с использованием ретроспективного эпидемиологического анализа. Детекция РНК и ее генотипирование проводились молекулярно-генетическими методами.

В Волгоградской области ЛД официально регистрируется с 2015 г. Все случаи связаны с туристическим отдыхом в эндемичных по данной инфекции странах юго-восточной Азии. По результатам молекулярно-генетических исследований, проведенных на базе испытательного лабораторного центра Волгоградского НИПЧИ, у заболевших волгоградских туристов были установлены следующие типы лихорадки Денге: в 2015 г. – DENV-3 (завоз из Таиланда), в 2016 г. – оба DENV-1 (завоз из

Малайзии и Вьетнама), в 2017 г. – DENV-1 (завоз из Таиланда). У всех больных лихорадка Денге представляла собой классическую форму заболевания средней степени тяжести. Отмечалось острое начало в виде гриппоподобного синдрома с лихорадкой, повышением температуры тела до 39 °С, умеренно выраженной головной болью, миалгией, артралгией, пятнисто-папулезной сыпью, общей слабостью на фоне интоксикации. В среднем, лихорадочный период сохранялся в течение 7 дней. Несмотря на то, что после выздоровления от инфекции, вызванной одним из четырех серотипов (DENV-1, DENV-2, DENV-3 и DENV-4), возникает пожизненный иммунитет к этому серотипу, при повторном заражении вирусом другого серотипа, развивается клинически выраженная форма лихорадки денге. Существует высокая вероятность интродукции

других серотипов лихорадки денге в регионы, где традиционно наблюдалась циркуляция лишь одного типа вируса, поэтому туристы, посещающие тропические курорты в течение нескольких лет, подвержены риску заболевания геморрагической лихорадкой денге.

Представленные данные указывают на то, что современные условия жизни (урбанизация, интенсивные миграционные процессы, развитие деловых и торговых связей, развитие туристического бизнеса) способствуют распространению лихорадки денге на неэндемичные территории, в связи с этим, возникает необходимость внедрения специфической диагностики среди граждан, возвратившихся из эндемичных стран, и проведение санитарно-просветительной работы, направленной на профилактику данного заболевания.

АЛИЗАДЕ Ю.С.

МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГОЛОСА У ЛИЦ ПЕДАГОГИЧЕСКИХ ПРОФЕССИЙ КАК ПРЕДМЕТ ПРИКЛАДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГИГИЕНИЧЕСКОЙ НАУКЕ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»,
Москва

Профессия педагога относится к категории социально значимых профессий, где активные трудовые действия происходят по коммуникационному направлению «человек–человек». Лица педагогических профессий входят в группу профессий с высокими требованиями к качеству голоса (фониатрическая группа «В»). Педагогический труд представляет собой синтез форм трудовой деятельности и характеризуется высокой ответственностью, большим объемом перерабатываемой информации, выраженной речевой нагрузкой, эмоциональной активностью. При этом педагоги лидируют среди профессиональных групп из общего числа европейских работников, наиболее подверженных профессиональному стрессу и синдрому эмоционального выгорания. Потенциальная связь вегетативных расстройств с развитием гиперчувствительности гортани негативным образом влияет на частоту случаев возникновения фониатрических нарушений. По статистике, функциональные нарушения голоса у педагогов встречаются в 6,5 раз чаще, чем у лиц неречевых профессий. Зарегистрированное число случаев заболеваний голосового аппарата среди отдельных категорий педагогов к началу XXI века возросло почти в 2 раза. Значительная часть выпускников педагогических ВУЗов по разным причинам не работает по профилю полученного образования, что косвенным образом также свидетельствует о высо-

кой степени напряженности труда представителей данной профессии.

Целью работы является поиск путей оптимизации системы профилактики заболеваний голосового аппарата профессионального геноза у отдельных категорий педагогических работников. Принципы профилактики заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью, рассмотрены с позиции медицины труда.

При подготовке работы были использованы эмпирические и теоретические методы исследования: метод экспертных оценок; ретроспективный анализ нормативно-правовой базы российского здравоохранения в части оказания фониатрической помощи населению; сравнительный анализ отечественного и зарубежного опыта диагностики заболеваний голосового аппарата у лиц педагогических профессий; анкетирование респондентов из числа целевой аудитории; изучение протоколов клинических обследований пациентов с применением специфического метода диагностики фониатрических нарушений (стробоскопия).

По результатам проведенного исследования установлено, что современные возможности медицины труда и ее гигиенической составляющей позволяют сосредоточить усилия на разработке превентивных мер для защиты органов голосового аппарата педагогических работников (органов-ми-

шеней) от воздействия неблагоприятных факторов труда и предупреждения развития профессиональной ЛОР-патологии.

Известно, что на основании Руководства Р 2.2006-05 по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса нагрузка на голосовой аппарат считается оптимальной – до 15 часов в неделю (3 часа в день), допустимой – до 20 часов в неделю (4 часа в день), вредной 1-ой степени – до 25 часов в неделю (5 часов в день), вредной 2-ой степени – более 25 часов в неделю (более 5 часов в день). Однако, по данным масштабного общероссийского исследования (Куприянова Т.В., Полунина Н.В., Полунин В.С., Иллиев С.П. и др.), значительная доля педагогических работников при опросе указала недельную голосовую нагрузку не менее 26 часов, что выходит за нормативные пределы. Эта ситуация негативно отражается на здоровье социально значимой профессиональной группы населения. Так, по данным О.В. Казариной, обращаемость педагогов в фониатрические кабинеты составляет, в среднем, 65 % от общего числа всех ЛОР-патологий, при этом почти в 50 % случаев диагностируются функциональные нарушения голоса. При этом, поводом для обращения педагогов за медицинской помощью являются уже отчетливо выраженные клинические признаки голосовых расстройств различной степени тяжести, которые в значительной степени затрудняют педагогический труд или делают его невозможным.

В настоящее время при выборе адекватных средств купирования расстройств голосового аппарата используется междисциплинарный подход. Врач-фониатр (оториноларингология) занимается фармакологической, физиотерапевтической, хирургической коррекцией и реабилитацией голосовой функции; врач-профпатолог (медицина труда) осуществляет физиолого-гигиеническую оценку тяжести и напряженности трудового процесса, одним из основных профессиональных инструментов которого является голос, а также решает вопрос о профессиональной пригодности работника; фонопед (педагогика) проводит немедицинскую коррекцию голоса.

Таким образом, распространенность и высокий уровень заболеваемости органов голосового аппарата

у представителей профессиональной группы педагогов обуславливают актуальную проблему медицины труда в части профилактики развития заболеваний голосового аппарата у работников голосо-речевых профессий, при этом охрана голоса педагогов в современных условиях приобретает особую практическую значимость.

Одним из путей повышения качества оказания фониатрической помощи работающим гражданам рассматривается разработка комплекса профилактических средств, основанных на принципах гигиенического нормирования голосовых нагрузок и положениях концепции управления профессиональными рисками, что может служить веским основанием для выравнивания нерационального финансового соотношения между лечением и профилактикой заболеваний профессионального генеза в целом.

Учитывая, что голос педагога является одним из наиболее значимых рабочих инструментов его профессиональной деятельности, а также принимая во внимание отсутствие специфических патогномических симптомов развития фониатрических заболеваний, сложность проведения специальной стробоскопической диагностики, ее высокую стоимость и ограниченную доступность, целесообразно уделить особое внимание вторичной профилактике. При проведении диспансеризаций педагогических работников должны применяться доступные низкобюджетные средства неинвазивной диагностики голосовых расстройств. Примером такого средства может стать специальный опросник субъективной самооценки голоса педагогов, что позволит обеспечить массовый характер диспансерного мероприятия и существенно облегчить выявление фониатрических нарушений на донозологической стадии развития заболевания. Разработанный нами вариант технологической карты опросника для преподавателей-лингвистов позволяет систематизировать получаемые в ходе опроса данные и выявлять контингент педагогических работников, находящихся в зоне профессионального риска развития нарушений голосового аппарата. Для повышения оперативности обработки эмпирического материала предусмотрена электронная версия опросника.

АЛИКБЕРОВ М.Х.

К ВОПРОСУ О РИСКЕ РАЗВИТИЯ КАРИЕСА ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБОВ У ДЕТСКОГО И ПОДРОСТКОВОГО НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

На значительных территориях Российской Федерации содержание некоторых химических эле-

ментов в почве, воде, растениях либо избыточное, либо недостаточное, что обуславливает формиро-

вание тех или иных эндемических заболеваний. Например, избыточное содержание в питьевой воде фтора приводит к развитию флюороза, недостаток – к кариесу твердых тканей зубов (КТТЗ).

Цель работы – оценить риск развития кариеса твердых тканей зубов у детского населения Республики Дагестан, проживающего на различных по содержанию фтора в питьевой воде территориях.

Оценку содержания фтора в источниках хозяйственно-питьевого водоснабжения провели по данным исследований проб воды, проведенных ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Дагестан» в 2010–2015 гг. Анализ заболеваемости КТТЗ проведен по данным Республиканского медицинского информационного аналитического центра. Провели сравнительный анализ заболеваемости у рассматриваемых групп населения в связи с различным уровнем содержания фтора в питьевой воде. Определяли средние уровни заболеваемости и ошибки средних ($M \pm m$). Достоверность различий определяли по критерию Манна–Уитни.

Нормируемое содержание фторидов в питьевой воде для III климатической зоны – 1,2 мг/л. Как показали аналитические данные, 80 % проб питьевой воды из источников централизованного водоснабжения, 83,9 % проб – из источником централизованного и нецентрализованного водоснабжения в республике содержали фтор на уровне ниже 0,5 мг/л; остальные в концентрациях от 0,5 до 1,5 мг/л. 80,0 % населения пользуется водой с низким содержанием фтора.

При оценке содержания фтора в пробах питьевой воды, взятых из источников водоснабжения, в 43 из 44 административных территорий установили различные концентрации. При этом практически на 100,0 % территорий основная доля проб показывала на содержание фтора от 0,2 до 0,5 мг/л (от 24,1 до 100,0 % проб). На 39,5 % территорий в

пробах воды было определено содержание фтора ниже 0,2 мг/л (от 3,2 до 52,3 % проб). Содержание фтора ниже 1,5 мг/л было в 4,0–91,6 %, отобранных на различных территориях.

Уровень заболеваемости кариесом твердых тканей зубов детей составил $332,4 \pm 22,9$ ‰, подростков – $1423,3 \pm 105,4$ ‰. Увеличение заболеваемости составило $4,2 \pm 0,1$ раза. Наименьший уровень заболеваемости детского населения был 69,5 ‰, наибольший – 654,7 ‰. Наименьший уровень заболеваемости подростков составил 194,8 ‰, наибольший – 2917,8 ‰.

При сравнительном анализе показателей заболеваемости детей и подростков, обеспечиваемых питьевой водой с различным уровнем содержания фтора: от 0,2 до 0,5 мг/л и менее 0,2 мг/л различий не было определено. Так, при содержании фтора в количестве от 0,2–0,5 мг/л заболеваемость КТТЗ детского населения составила $337,5 \pm 31,0$ на 1 тыс. человек (‰), подросткового – $1460,4 \pm 148,2$ ‰ (увеличение в $4,2 \pm 0,1$ раза). При содержании фтора в воде ниже 0,2 мг/л заболеваемость детского населения составила $324,5 \pm 34,2$ ‰, а подросткового – $1364,5 \pm 140,5$ ‰ (увеличение в $4,3 \pm 0,1$ раза). Критерий Манна–Уитни для детского населения при различном содержании фтора составил 0,372, для подросткового – 0,381.

Таким образом, с одной стороны, несомненно, определено влияние недостаточности фтора в питьевой воде на заболеваемость КТТЗ детского и подросткового населения Республики Дагестан, что подтверждается значительным превышением у подростков. С другой стороны, не определено достоверных различий в уровнях заболеваемости и детского, и подросткового населения, проживающего на различных по уровню содержания фтора в источниках хозяйственно-питьевого водоснабжения.

АЛИКБЕРОВ М.Х., БАХМУДОВ Г.Г.

О РИСКЕ РАЗВИТИЯ ЭНДЕМИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У НАСЕЛЕНИЯ НА РАЗЛИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

Химические элементы в свободном состоянии или в виде химических соединений входят в состав всех клеток и тканей организма человека, в состав ферментных систем, обеспечивающих метаболические процессы организма, играют роль строительного материала. Недостаточное или избыточное их поступление приводит к различным микроэлементам.

Цель работы – оценка риска здоровью населения Республики Дагестан, проживающего в биогеохимической провинции с различным содержанием минеральных веществ (МВ) в окружающей среде.

Оценку содержания МВ в объектах окружающей среды (вода, почва, растения, животные) Республики Дагестан провели по данным анализа результатов научных публикаций и данным

оценки проб воды, проведенных ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Дагестан» в 2010–2015 гг.

Среди основных причин несоответствия нормативным требованиям качества питьевой воды, подаваемой населению, – естественное (природное) повышенное содержание в источниках солей кальция и магния (общая жесткость), азотсодержащих соединений, мышьяка, низкое содержание фтора, йода. С высоким содержанием жесткости употребляют воду более 1 млн. 400 тыс. человек. В городах и районах республики питьевая вода характеризуется неполноценностью своего химического состава в связи с низким содержанием фтора (ниже 0,5 мг/л), йода в основных поверхностных и подземных источниках водоснабжения. 30 % населения республики потребляют питьевую воду с пониженным содержанием фтора. Содержание йодидов по всей республике в питьевой воде ниже ПДК (0,125 мг/л), кроме населенных пунктов, прилегающих к г. Махачкала, Кизлярский, Новолакский районы, гг. Дагестанские Огни, Кизляр.

В водах различных регионов Дагестана определяются значительные концентрации мышьяка: 37,5 % площади Республики Дагестан. На территории бассейна проживает более 290 тыс. человек из них более 57 тыс. – детей. С повышенным содержанием железа в республике употребляют воду более 200 тыс. человек.

Содержание йода в почвах Дагестана, распределение в почвенном профиле зависят от типа почв, высоты над уровнем моря. Так, наименьшее значение элемента обнаружено в горно-луговых долинных почвах и горно-луговых остепненных. Довольно высокое (15,66 мг/кг) – в горно-луговых

остепненных почвах. Промежуточное положение заняли светло-каштановые супесчаные, светло-каштановые суглинистые, луговые тяжелосуглинистые почвы. Содержание и распределение йода в изученных типах почв на различных высотах над уровнем моря представляют довольно сложную, неоднозначную картину. Например, горно-луговая остепненная почва показала разброс в содержании элемента на разной высоте. Содержание подвижных форм Со, Мп, В, Си в почвах варьировало, как по типам почв, приуроченных к определенному природному поясу, так и по их генетическим горизонтам.

Это отражалось на содержании МВ в растениях, органах и тканях сельскохозяйственных животных. Среднее содержание микроэлементов в растениях пастбищ одних районов отличалось от содержания в других, что обуславливало содержание данных веществ в органах и тканях сельскохозяйственных животных. Например, различные концентрации йода в почвах, его соотношения с кобальтом, селеном, серой, медью, молибденом приводили к развитию эндемического зоба у овец и замедлению окислительно-восстановительных процессов. Избыток молибдена приводит к развитию беломышечной болезни ягнят.

Таким образом, содержание МВ в различных средах внешней среды в условиях Республики Дагестан обуславливает риск развития заболеваний у населения. Это свидетельствует о необходимости проведения профилактической работы по предупреждению эндемических заболеваний среди различных слоев населения с учетом территориальных характеристик пищевой цепи: почва, вода, растение, животное, человек.

АНТИПОВА О.В., БЫСТРОВА Т.Н.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ МАРКЕРОВ ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ УЧРЕЖДЕНИЙ РОДОВСПОМОЖЕНИЯ

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

В настоящее время парентеральные гепатиты занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека как в России, так и в целом по миру. По данным Всемирной организации здравоохранения гепатитом С инфицировано более 500 млн. жителей планеты, до 5 млн. из них проживает в РФ. Актуальность проблемы гепатита С (ГС) обусловлена повсеместным распространением, значительным социально-экономическим ущербом, тяжестью течения заболевания, активным вовлечением в эпидемический процесс лиц

репродуктивного и трудоспособного возраста. Учитывая преимущественно скрытое течение ГС инфекции и высокий уровень гетерогенности вирусной популяции, сведения об особенностях течения инфекции у беременных женщин остаются отрывочными.

Естественные пути передачи вируса гепатита С (перинатальная и половая) определяют существование вируса-возбудителя ГС в популяции людей. Особую актуальность имеет перинатальная передача вируса гепатита С (ВГС) от

инфицированной матери ребенку, так как играет решающую роль в прогнозировании распространения ГС-вирусной инфекции в будущих поколениях.

По результатам научных публикаций, посвященных оценке риска передачи ВГС от матери ребенку, частота перинатального инфицирования ребенка колеблется от 3 до 10 %, составляя в среднем 5 %. Передача вируса от матери ребенку может происходить интранатально, то есть во время родов, а также в пренатальном периоде и постнатальном периоде.

Отсутствие эффективных средств специфической профилактики гепатита С значительно осложняет борьбу с этой инфекцией.

Целью работы явилось изучение частоты обнаружения иммунологических и молекулярно-генетических маркеров ВГС у беременных женщин для установления активности перинатальной передачи ВГС от матери ребенку.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы сыворотки крови, полученные от беременных за период с 2013 по 2015 гг. Возраст обследованных варьировал от 18 до 45 лет. На наличие маркеров гепатита С было исследовано 12005 сывороток крови беременных, а также 163 сыворотки крови детей, родившихся у женщин, инфицированных ВГС.

На наличие молекулярно-генетических маркеров вируса проведено обнаружение рибонуклеиновой кислоты (РНК) в плазме крови всех серопозитивных лиц. На наличие РНК ВГС методом ПЦР обследовано 295 человек, в том числе 42 детей.

Лабораторное исследование включало определение анти-ВГС IgM и IgG (core, NS3, NS4, NS5) методом ИФА с использованием коммерческих тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (п. Кольцово, Новосибирская обл.). Качественное, количественное выявление и генотипирование РНК ВГС проводили методом ОТ – ПЦР в режиме «real-time» с помощью диагностикомов фирмы ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва). Результаты интерпретировали в соответствии с инструкциями фирм-производителей коммерческих тест-систем.

Результаты и их обсуждения. Исследование показало, что частота обнаружения анти-ВГС у беременных женщин составила $3,98 \pm 0,08$ %, что находилось в соответствии с аналогичными данными по обнаружению анти-ВГС среди «условно здорового» населения города.

Проведение ПЦР-скрининга показало большое количество существующих источников ГС

инфекции среди обследованных лиц. Следует отметить значительный показатель превалентности РНК ВГС среди серопозитивных беременных ($59,6 \pm 0,36$ %), который свидетельствует о значительной интенсивности латентного компонента эпидемического процесса и широте распространения скрытых источников ГС в общей популяции. При одновременном наличии антител класса IgM и IgG во всех случаях выявлена РНК ВГС, как свидетельство репликативной активности вируса.

Установлена циркуляция среди беременных женщин 4 субтипов ВГС: 1a ($7,08 \pm 0,08$ %), 1b ($43,3 \pm 0,6$ %), 2 ($5,5 \pm 0,8$ %), 3a ($37 \pm 0,7$ %), с преобладанием генотипа 1b и 3a. Значительно реже встречаются субтипы 1a и 2. Генотип не дифференцирован в $4,7 \pm 0,8$ %, что связано с низкой вирусной нагрузкой (< 150 МЕ/мл), а также возможно с наличием редкого генотипа вируса. Полученные результаты отражают общую картину генотипического разнообразия вируса, характерную для Нижегородского региона.

Динамическое клинико-лабораторное обследование детей, родившихся у женщин, инфицированных ВГС (имевших анти-ВГС в крови), установило перинатальную передачу вируса ($38,03 \pm 0,6$ %). Анти-ВГС определяли в крови у 163 детей, родившихся у женщин с наличием ВГС инфекции, после рождения, однако их выявление в эти сроки не служит основанием для диагностики перинатального инфицирования. Диагностика у таких детей перинатальной передачи ВГС возможна при обнаружении у них в первые 12 месяцев жизни РНК ВГС, а также при выявлении генотипа ВГС, аналогичного материнскому. Наличие РНК ВГС у новорожденных детей составила $33,3 \pm 1,2$ %. При этом обследованные женщины, передавшие вирус ребенку, имели высокую вирусную нагрузку – 10^5 МЕ/мл и более.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что среди беременных женщин частота циркуляции вируса гепатита С высокая, что свидетельствует об интенсивности латентного компонента эпидемического процесса и широте распространения скрытых источников ГС, а также о значительном риске вертикальной передачи вируса от матери ребенку.

Полученные данные аргументируют необходимость обязательного включения определения специфических маркеров ВГС и РНК ВГС в алгоритм обследования женщин, планирующих беременность.

АНТОНОВ А.С.¹, УСТИНОВ Д.В.¹, ВУИ Т.Л.А.², ТЕТЕРЯТНИКОВА Н.Н.¹, NGO Т.Н.²,
ШПАК И.М.¹, ЗАХАРОВА И.Б.¹

МУЛЬТИЛОКУСНОЕ СИКВЕНС-ТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ВЬЕТНАМА

¹ ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

² Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр,
Ханой

Возбудитель мелиоидоза *Burkholderia pseudomallei* – грамотрицательная бактерия, являющаяся почвенным сапробом. Основными эндемичными по мелиоидозу территориями в настоящее время считаются страны Юго-Восточной Азии и северная Австралия. Также к ним относят большинство стран Индийского субконтинента, Африку и остров Мадагаскар, южный Китай, Гонконг, Сингапур и Тайвань. Случаи заболевания людей отмечены в Южной и Северной Америке, странах Карибского бассейна и на островных территориях в Тихом и Индийском океанах, таких как Новая Каледония и Маврикий. На территории Вьетнама *B. pseudomallei* распространен повсеместно. На сегодняшний день мелиоидоз признан проблемой для системы здравоохранения этого государства. В 2003 г. Godoy с соавторами предложили схему мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) на основе генов домашнего хозяйства (*ace*, *gltB*, *gmhD*, *lepA*, *lipA*, *narK*, *ndh*), которая на сегодняшний день является одним из наиболее эффективных методов внутривидовой дифференциации *B. pseudomallei*. Данный метод позволяет описать не только генетическое разнообразие возбудителя, но и охарактеризовать его эволюционную динамику.

Целью данной работы было генотипирование клинических изолятов *B. pseudomallei*, выделенных на территории Вьетнама в 2015–2016 гг. методом МЛСТ, используя в качестве целевых переменных локусов фрагменты генов *gmhD*, *nhd*, *narK*, *lipA*, *lepA*.

В данной работе исследовали 18 клинических изолятов возбудителя мелиоидоза. Работа с культурами возбудителя велась в соответствии с санитарными правилами СП 1.3.3118-13. Выделение ДНК было проведено в соответствии с методикой предложенной И.Б. Захаровой с соавт. (2017). Амплификация пяти локусов (*gmhD*, *nhd*, *narK*, *lipA*, *lepA*) проводилась с использованием праймеров и параметров ПЦР, указанных в статье Е. Price с соавт. (2016). Очистку продуктов реакции осуществляли при помощи электрофореза с последующим вырезанием специфических бендов. Реакцию циклического секвенирования осуществляли с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Учет результатов проводили при помощи генетического анализатора ABI

Prism 3130. Анализ хроматограмм и выравнивание нуклеотидных последовательностей, полученных в результате секвенирования каждого локуса, осуществляли при помощи программного пакета MEGA 7. Аллели исследуемых локусов (*gmhD*-*lepA*-*lipA*-*narK*-*ndh*) были определены путем сравнения полученных последовательностей с последовательностями, представленными в базе данных *Burkholderia pseudomallei* MLST Databases (<https://pubmlst.org/bpseudomallei/>). Номера исследуемых аллелей всех пяти фрагментов генов домашнего хозяйства для каждого изолята были записаны в ряд целых чисел, тем самым образуя аллельный профиль штамма.

В результате проведенного анализа нам удалось выявить 15 различных аллельных профилей среди 18 клинических изолятов *B. pseudomallei*. Три изолята (V1609, V1610, V1611) имели идентичный аллельный МЛСТ профиль – 6-1-5-2-1. Изоляты V1505 и V1608 обладали МЛСТ – профилем – 3-1-5-22-1. Остальные 13 изолятов имели уникальные МЛСТ – профили. Наибольшей дифференцирующей способностью среди пяти локусов обладал локус *narK*. С его помощью удалось разделить исследуемые штаммы на 7 отдельных групп. Наименьшей – локус *lipA*, разделивший изоляты на две группы. Таким образом, нами продемонстрировано, что штаммы *B. pseudomallei*, использованные в нашей работе, генетически неоднородны и обладают выраженным внутривидовым полиморфизмом. Полученные нами данные согласуются с данными, представленными в работе D. Phuong с соавт. (2008), посвященными изучению штаммов *B. pseudomallei* на территории северного Вьетнама. При сравнении МЛСТ-профилей исследуемых штаммов *B. pseudomallei* с профилями, представленными в базе данных *Burkholderia pseudomallei* MLST Databases, удалось выявить, что большинство из них соответствуют изолятам возбудителя, выделенным на территории ряда стран Юго-Восточной Азии, включая Вьетнам, Таиланд, Малайзию и Китай. Исключением являются штаммы *B. pseudomallei* V1502 и V1504, чьи аллельные профили не имеют аналогов в существующей базе данных и, следовательно, обладают ранее не описанными сиквенс-типами. Последующее секвенирование локусов *ace* и *gltB*, предложенных в схеме D. Godoy с соавт. (2003), позволит получить

более полные данные о генетической гетерогенности популяций *B. pseudomalei*, циркулирующих в регионе Центрального Вьетнама, что необходимо

для дальнейшего молекулярно-эпидемиологического мониторинга за возбудителем мелиоидоза на территории страны.

БАДАМШИНА Г.Г. ¹, ЗИАТДИНОВ В.Б. ¹, ИСАЕВА Г.Ш. ², СТАВРОПОЛЬСКАЯ Л.В. ¹,
ВАЛЕЕВ А.А. ¹, ХАЛДЕЕВА Е.В. ², ГЛУШКО Н.И. ², КИРИЛЛОВА М.А. ¹, ЗЕМСКОВА С.С. ¹

ОСОБЕННОСТИ КОНТАМИНАЦИИ ГРИБАМИ-МИКРОМИЦЕТАМИ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ

¹ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)»,
Казань

² ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора,
Казань

Одной из наиболее распространенных форм инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) является инвазивный аспергиллез, мукозоз и другие оппортунистические микозы, нередко регистрируемые у пациентов ОРИТ, повсеместно, в т.ч. и по Российской Федерации. Так, по данным регистра, созданного в Санкт-Петербурге, мукозозы развились у 4 % больных инвазивным аспергиллезом, в период с 2007 по 2015 гг. было выявлено 23 больных мукозозом и инвазивным аспергиллезом из 7 стационаров города.

Распространение плесневых грибов в воздушной среде больничных помещений может быть обусловлено различными факторами, такими как: состояние самих помещений, давность их постройки и текущего ремонта, наличием биоповреждений, повышенной влажностью, затрудненным воздухообменом, недостаточно эффективным режимом дезинфекции и т.д. При этом большое значение имеет запыленность воздуха, содержащего споры грибов размером от 2,5 до 5 мкм, что позволяет им достигать легочных альвеол человека.

В действующих на территории РФ нормативно-методических актах методы выделения и идентификации грибов-микроспоров из объектов окружающей среды освещены недостаточно, нормы содержания их в воздухе не показаны. Вместе с тем, воздух, соответствующий нормам по другим микробиологическим показателям может быть контаминирован грибами в количествах, не превышающих установленные значения. Тогда как контаминация воздушной среды грибами-микроспорами может оказывать негативное воздействие на здоровье человека даже при низких показателях обсемененности. В первую очередь это относится к помещениям операционных, а также отделений, в которых находятся пациенты со снижением функций защитных систем (отделений реанимации и интенсивной терапии, гематологические отделения, операционные, родильные залы и др.). Не менее значимым является риск развития

микогенной аллергии, которому подвержены пациенты в условиях высокого уровня контаминации воздушной среды конидиями грибов.

Цели исследования – оценить контаминацию грибами-микроспорами воздушной среды помещений медицинского учреждения.

Микробиологические исследования воздушной среды медицинской организации Республики Татарстан проведены в рамках планового контроля Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Отбор проб воздуха произведен до и во время работы в помещениях процедурных кабинетов и манипуляционных медицинского учреждения (МУ) в соответствии с МУК 4.2.2942-11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях». Всего было отобрано 15 проб воздуха в МУ, реконструированном в 2010-е годы, на 3–10-этажных зданиях которого размещены отделения гнойной и общей хирургии, женская консультация, поликлиника, родильный дом. Выделение грибов-микроспоров проводили с использованием питательной среды Сабуро производства Индии и Испании, культивирование – при 28 °С в течение 10 суток. Количество выросших микроорганизмов пересчитано на 1 м³ воздуха. Идентификация осуществлена общепринятыми морфологическим и микроскопическим методами с помощью определителей грибов, руководств по микологии. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Office».

По результатам проведенного исследования установлено, что в воздухе помещений медицинских организаций было выявлено 10 родов и 16 видов плесневых грибов в количестве до 1000 КОЕ/м³.

Наиболее высокий удельный вес приходился на грибы-микроспоровые родов *Penicillium* (20,5 %), *Alternaria* и *Cladosporium* (по 17,9 %). Микроспоровые

Penicillium spp. в количестве до 100 КОЕ/м³ в половине случаев были представлены *P. chrysogenum*, в одном случае *P. cyclopium*, в остальных случаях – неидентифицированными видами пеницилл. Грибы IV группы патогенности рода *Alternaria*, которые обнаруживались до и во время работы в количестве до 36 КОЕ/м³ в большинстве случаев принадлежали виду *Alternaria alternata*. Обнаружение широко распространенных в природе ингаляционных аллергенов *Alternaria spp.* в воздухе помещений больницы может стать причиной развития сенсибилизации и аллергических реакций, в т.ч. бронхиальной астмы у пациентов и медицинского персонала. *Cladosporium herbarum*, характерный для почвы и растительных остатков, обнаруживался в воздухе медицинских организаций в количестве до 40 КОЕ/м³ в 7 случаях.

Наиболее патогенные представители III группы – грибы рода *Aspergillus spp.*, в т.ч. *A. flavus* и *A. terreus* были идентифицированы в 12,8 ± 5,3 % случаев до 40 КОЕ/м³ в помещениях родильного зала и малой операционной. Наиболее опасным последствием воздействия этих грибов на организм человека является инвазивный аспергиллез у пациентов с иммуносупрессией. В то же время, инфицирование ран или попадание конидий грибов в полости может привести к местным аспергиллезным заболеваниям органов слуха, зрения, полости рта, придаточных пазух носа.

Грибы рода *Acremonium* и *Fusarium*, также относящиеся к IV группе были выделены по 10,6 % случаев в количествах от 10–10⁵ КОЕ/м³ в операционных, операционных блоках отделения, манипуляционных в т.ч. женской консультации, прививочных кабинетах. Присутствие этих грибов

в воздухе может быть обусловлено наличием очагов биодеструкции, также повышенным уровнем пыли в воздухе. Наибольший риск контаминация представляет для пациентов офтальмологических и ЛОР отделений, палат интенсивных терапий, вследствие способности данных микромицетов к развитию поверхностных инфекций кожи и кератитов, а в некоторых случаях – легочных инфекций. Кроме того, наличие в воздухе рабочей зоны грибов – микромицетов может быть потенциальным фактором риска развития аллергических и воспалительных заболеваний у лиц, находящихся в помещениях медицинского учреждения.

В единичных количествах обнаруживались колонии грибов различных групп патогенности: *Stemphylium spp.*, *Neurospora spp.*, *Trichoderma spp.*, *Rhodotorula spp.* (по одному случаю). Высокая степень контаминации помещений грибами-микромицетами, вероятно, может быть связана с неудовлетворительным состоянием помещений, негерметичностью окон, проблемами с вентиляцией и несовершенством отделки.

Установлено, что в пробах воздуха помещений медицинских учреждений были выделены микромицеты в количестве до 10⁵ КОЕ/м³. Широкое видовое разнообразие грибов-микромицетов, идентифицированных в пробах воздуха, диктует необходимость проведения контроля эффективности применяемых в организации средств дезинфекции. Учитывая высокую контаминацию воздуха плесневыми грибами различных видов, важным является совершенствование мероприятий по мониторингу за инфекциями, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных микромицетами.

БАЙДАКОВА Е.В., УНГУРЯНУ Т.Н.

ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КАЧЕСТВА ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ ПОСЛЕ ВОДОПОДГОТОВКИ И В РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНОЙ СЕТИ НА ТЕРРИТОРИЯХ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ВОДОИСТОЧНИКОВ

Управление Роспотребнадзора по Архангельской области,
Архангельск

Обеспечение населения доброкачественной питьевой водой остается актуальной проблемой международного масштаба, основными аспектами которой являются получение достаточного количества воды, безопасной в эпидемиологическом отношении, безвредной по химическому составу, имеющей хорошие органолептические свойства (Яркина Т.В., 2010). Неудовлетворительное качество питьевой воды повышает вероятность возникновения заболеваний, связанных с водным фактором, и, в первую очередь, является причиной высокого уровня инфекций бакте-

риальной и вирусной этиологии (Сергеева Е.С., 2014).

Изношенность водонесущих сетей и аварийные ситуации на централизованных водопроводах способствуют вторичной контаминации микробиологическими загрязнителями уже очищенной питьевой воды, подаваемой населению.

Целью исследования являлась оценка качества питьевой воды на территориях с различными типами водоемких источников в двух точках отбора: сразу после водоподготовки (2 подъем) и непосредственно в водопроводной сети.

Выполнена санитарно-гигиеническая оценка качества воды централизованного питьевого водоснабжения 6 городов и 17 районов Архангельской области. Проведен анализ базы данных микробиологических показателей воды, полученных в рамках социально-гигиенического мониторинга за 11-летний период: с 2006 по 2016 гг. по 44 мониторируемым створам поверхностных и подземных водоисточников в 2 точках отбора (2 подъем и сеть). Описываемые территории были разделены на две группы по типу водоисточника: 9 территорий с поверхностными водоисточниками (первая группа) и 14 территорий с подземными водоисточниками (вторая группа).

Анализ качества воды проводился по показателям: общее микробное число (ОМЧ – норматив не более 50 колониобразующих единиц (КОЕ) в 1,0 мл), содержание общих колиформных бактерий (ОКБ – отсутствие в 100 мл), термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ – отсутствие в 100 мл) и колифагов (отсутствие в 100 мл).

Для описания содержания исследуемых показателей в воде использованы удельный вес нестандартных проб, медиана (Me) и 95 перцентиль (P95). Статистический анализ данных выполнен с использованием программного обеспечения STATA 11.0.

Удельный вес нестандартных проб по показателю ОМЧ в первой группе территорий в распределительной сети в 2,8 раза превышал значение аналогичного показателя на 2 подъеме, по показателю ТКБ – в 1,6 раза, ОКБ – в 1,5 раза, а по показателю колифагов – в 1,1 раза. Медианное значение всех микробиологических показателей питьевой воды первой группы территорий в обеих точках соответствовало гигиеническому нормативу. Значение 95 перцентиль в воде водопроводной сети территорий с поверхностными водоисточниками по показателю ОМЧ в 3 раза превышало значение аналогичного показателя на 2 подъеме, а по показателю ОКБ – в 60 раз. Значение P95 показателей ТКБ и колифагов на 2 подъеме описываемой группы территорий не превышало нулевого значения, тогда как в распределительной сети ТКБ достигало уровня 9 НВЧ/100 мл, а колифагов – 0,7 БОЕ/100 мл.

При сравнительном анализе микробиологических показателей во второй группе территорий установлено, что удельный вес нестандартных проб в водопроводной сети по показателю ТКБ в 1,8 раза выше, чем после водоподготовки, по показателю колифагов – в 1,6 раза, по показателю ОКБ – в 1,5 раза, по показателю ОМЧ – в 1,1 раза. Медиана показателей ОКБ, ТКБ и колифагов в обеих сравниваемых точках не превышала нулевого значения. Медианное значение показателя ОМЧ на 2 подъеме достигало уровня 0,3 КОЕ в 1 мл, а в водопроводной сети равнялось нулю. Значение 95 перцентиль в распределительной сети на территориях с подземными водоисточниками по

показателю ТКБ в 2,7 раза превышало значение P95 на 2 подъеме, ОКБ – в 1,6 раза, ОМЧ – в 1,2 раза.

При сравнении показателей питьевой воды между группами территорий установлено, что микробиологическое качество воды централизованной сети на территориях с подземными водоисточниками после водоподготовки по трем из четырех показателей оказалось хуже, чем на территориях с поверхностными источниками. Так, значение 95 перцентиль по показателю ОМЧ в первой группе территорий в 2,1 раза ниже, чем во второй, а по показателю ОКБ – в 4,7 раза. По параметру ТКБ в группе территорий с поверхностными водоисточниками значение P95 не превышало гигиенического норматива, а во второй группе P95 = 0,4 НВЧ/100 мл.

При сравнении качества питьевой воды в распределительной сети установлено, что на территориях с подземными водоисточниками качество питьевого водоснабжения выше, чем на территориях с поверхностными источниками. Значение параметра ОМЧ в первой группе территорий на уровне P95 достигало значения 21 КОЕ и в 1,2 раза превышало значение P95 территорий с подземными водоисточниками. По показателю ОКБ в первой группе значение P95 = 24 НВЧ/100 мл, что в 8 раз выше, чем аналогичное значение параметра во второй группе территорий. По параметру ТКБ в группе территорий с поверхностными водоисточниками значение P95 = 9 НВЧ/100 мл, а во второй группе P95 = 0,9 НВЧ/100 мл. Индекс колифагов в первой группе достигал значения P95 = 0,65 БОЕ/100 мл, значение P95 во второй группе соответствовало гигиеническому нормативу.

Таким образом, микробиологическое качество питьевого водоснабжения на территориях с поверхностными водоисточниками ниже, чем на территориях с подземными. Из анализа качества воды в разных точках отбора установлено, что ухудшение микробиологических показателей интенсивнее происходит в распределительной сети территорий с поверхностными водоисточниками.

Однако, качество водоподготовки питьевой воды на территориях с поверхностными водоисточниками выше, чем на территориях с подземными водоисточниками. Этим обусловлены более низкие показатели микробиологического качества питьевой воды на 2 подъеме во второй группе территорий, при этом в 2016 г. по сравнению с 2014 г. удельный вес проб воды поверхностных источников, не соответствующих гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, увеличился, темп прироста составил 14,5 %. Удельный вес проб воды подземных источников, не соответствующих гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, снизился, темп снижения составил 28,6 % (Государственный доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Архангельской области в 2016 г.).

Территории с поверхностными водоисточниками, вне зависимости от точки отбора, характе-

ризуются низким качеством питьевой воды по показателю колифагов, что свидетельствует о более высоком риске заражения инфекциями с

водным путем передачи возбудителя среди населения данных территорий, относительно населения территорий с подземными водоисточниками.

БАЯЗИТОВА А.А.

СПЕКТР ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОНИХОМИКОЗОВ СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА КАЗАНИ

ФБУН Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора,
Казань
ФГБОУ ВО Казанский Приволжский Федеральный Университет,
Казань

В последнее время отмечается значительное увеличение распространенности онихомикозов. Согласно статистическим данным, примерно 20–25 % мирового населения подвержено данному заболеванию. Рост числа онихомикозов связывают с ухудшением материальных и социальных условий жизни, несоблюдением санитарно-гигиенических условий в быту, увеличением вероятности тесных контактов между людьми. Одной из причин является также возможность распространения возбудителей грибковой инфекции в общественных местах: бассейнах, аквапарках, спортивных и тренажерных залах, парикмахерских и маникюрных салонах.

Лечение грибковых инфекций ногтей осложняется рецидивами и повторным инфицированием микромицетами с других пораженных участков тела, обуви, носков, напольных покрытий. Также микромицеты могут передаваться от одного члена семьи к другому, превращаясь во внутрисемейную инфекцию. Таким образом, онихомикоз может превращаться в постоянный источник заражения микромицетами для членов семьи, коллег и друзей больного.

Онихомикоз способен вызывать ухудшение качества жизни, так как пациенты остро реагируют на изменения эстетического состояния своих кистей и стоп, испытывая чувство стыда в связи с косметическим дефектом кожи. Кроме ухудшения психологического состояния и внешнего вида пациентов, грибы способны к сенсибилизации организма людей и с высокой вероятностью к развитию аллергических реакций.

Возбудителями инфекции могут являться как дерматомицеты, так и дрожжеподобные и плесневые грибы. Попадая на стопы здоровых людей, грибок может развиваться сразу, но, как правило, возникновению инфекции способствуют наличие таких благоприятных условий как влажность, тепло, которые очень часто возникают при ношении закрытой обуви и приводят к развитию первичных очагов онихомикозов.

Грибковые заболевания, вызванные различными грибами, могут иметь схожую клиническую картину, поэтому для назначения эффективного противогрибкового лечения имеет значение правильное определение возбудителя инфекции. Также это необходимо для применения наиболее эффективных

средств дезинфекции для обработки обуви, одежды, маникюрных принадлежностей и ванной комнаты.

В 2017 году было проведено обследование кожи и ногтей кистей и стоп у 1187 женщин (71,9 %) и мужчин (28,1 %) старше 18 лет с подозрением на онихомикоз. Из них с жалобами на поражение кистей обратилось 283 человека, а стоп – 904.

В результате проведенных исследований грибы были выявлены у 886 больных (75 %). Наиболее часто отмечалось наличие дерматофитов (*Trichophyton rubrum*) (81,5 %) и дрожжеподобных грибов (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Rhodotorula rubra*) (45,5 %).

На коже и ногтях стоп преобладали представители вида *T. rubrum* (87,2 %), *C. albicans* (24,9 %), *A. niger* (14,4 %). В единичных случаях были обнаружены: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *Alternaria* spp., *C. kruzei*, *C. tropicalis*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *P. expansum*, *P. tardum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma viride*, *Trichophyton* spp., *T. mentagraphytos*.

На коже и ногтях кистей наиболее часто встречались: *T. rubrum* (77,6 %), *C. albicans* (61,3 %), *A. niger* (29,4 %), *C. parapsilosis* (9,3 %), *Rhodotorula rubra* (7,8 %).

У 12 % пациентов в микробиологических посевах встречались грибковые ассоциации дерматомицетов и дрожжеподобных грибов, отмечено совместное присутствие дерматомицетов и плесневых грибов (13 %), а также дрожжевых и плесневых грибов (1,2 %).

Было отмечено, что женщины обращаются для лечения онихомикоза значительно чаще мужчин, что может быть обусловлено их большим вниманием к состоянию кожи и ногтей. Одной из причин развития онихомикозов пациентки называют посещение маникюрных салонов. Травмирование ногтей во время маникюра и педикюра, недостаточная обработка инструментов, а также контаминация самих лаков может приводить к возникновению источника заражения грибковыми инфекциями. Также нанесение покрытий гель-лаком представляет опасность, в виду того что женщины часто закрашивают проблему новым слоем лака, позволяя инфекции развиваться дальше. У женщин, делавших покрытие ногтей гель лаком, наиболее часто выявляли дрожжеподобные грибы.

Среди мужчин часто встречаются запущенные случаи, например онхомикоз, развивающийся со службы в армии, в таких случаях пациенты часто обращаются за помощью после того как лечиться начинает один из членов семьи.

Своевременное выявление и лечение онхомикоза имеет важное значение, так как растет количество

людей подверженных онхомикозу. Своевременное выявление инфекции и его источника, принятие адекватных мер по санации очага поражения позволяет существенно снизить риск заражения окружающих, а проведение рациональной терапия способствует повышению качества жизни пациента и его близких.

БОЛОТОВА Н.А., ХАСНАТИНОВ М.А., МАНЗАРОВА Э.Л., ДАНЧИНОВА Г.А.

РЕПРОДУКЦИЯ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК *APODEMUS PENINSULAE* КАК МОДЕЛЬ ПРОТЕКАНИЯ ИНФЕКЦИИ У ЕСТЕСТВЕННЫХ ХОЗЯЕВ ВИРУСА

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»,
Иркутск

Клещевой энцефалит (КЭ) остается одной из наиболее опасных и широко распространенных природно-очаговых болезней в Российской Федерации. В природе существование ВКЭ поддерживается за счет непрерывной циркуляции между теплокровными позвоночными хозяевами и членистоногими переносчиками – клещами. Изучение механизмов циркуляции ВКЭ в природе необходимо для понимания эпидемического процесса КЭ и разработки новых стратегий мониторинга, прогноза и контроля этой инфекции. Однако, существующие *in vitro* и *in vivo* модели инфекции ВКЭ не специфичны – это клеточные линии животных, не являющихся естественными хозяевами клещевых флавивирусов: свиньи, домового мыши, хомяка, человека. Они хорошо подходят для моделирования заболевания человека, однако не отражают ход естественной инфекции флавивирусов.

Цель данной работы – изучить репродукцию вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в новой перевиваемой линии клеток почки восточноазиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* (АрпК) в сравнении с традиционной культурой клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ).

Перевиваемая линия клеток АрпК получена в лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск), идентичность культуры установлена с помощью кариотипирования и с помощью анализа нуклеотидной последовательности митохондриального гена цитохрома В (mtCytB, номер доступа GenBank KT983422) и последовательности D-петли митохондриального генома (d-loop, KT983423). Клетки заражали штаммом ВКЭ сибирского субтипа 92М и выделяли из них суммарную РНК через 0, 4, 8, 16 и 24 часа после заражения. Кроме того, РНК выделяли также через 1, 4, 7 и 19 дней после заражения. Количество внутриклеточной РНК ВКЭ положительной полярности (+РНК) оценивали с помощью количественной

ПЦР в режиме реального времени. Концентрацию инфекционного ВКЭ в культуральной жидкости определяли с помощью титрования бляшкообразующих единиц (БОЕ) и выражали в виде lg БОЕ/мл. Продукцию антигена ВКЭ зараженными клетками оценивали в иммунофлуоресцентном анализе с помощью тест-систем производства Вектор-Бест согласно инструкции производителя.

На начальном этапе инфицирования (0 часов после заражения) в клетках АрпК концентрация внутриклеточной +РНК была существенно ниже, чем в клетках СПЭВ – 4,5 lg против 5,5 lg геном-эквивалентов/мкл ($p = 0,01$). Через 8 ч в клетках АрпК достоверных различий с точками 0 и 4 выявлено не было ($p = 0,5$ и $p = 0,1$ соответственно), тогда как в клетках СПЭВ на этой стадии концентрация РНК была существенно выше, чем в точках 0 и 4 ($p = 0,001$ и $p = 0,01$ соответственно). В целом, в течение первых суток инфекции, концентрация +РНК в клетках АрпК была почти в 10 раз ниже, чем в клетках СПЭВ ($p = 0,001$). К четвертому дню после заражения в клетках АрпК отмечены максимальные концентрации +РНК – 7,8 lg геном-эквивалентов/мкл – причем различий с клетками СПЭВ не наблюдалось ($p = 0,06$). В дальнейшем количество РНК в клетках АрпК оставалось на том же уровне в течение 19 дней, а в клетках СПЭВ на поздних сроках отмечалась тенденция к снижению концентрации +РНК.

Начальные концентрации инфекционного ВКЭ в культуральной жидкости обеих культур клеток были одинаковы и не изменялись в течение первых 4 часов. Продукция ВКЭ происходила с задержкой порядка 4 часов относительно появления первых +РНК. При этом, в культуре клеток СПЭВ повышение титров ВКЭ отмечалось через 8 часов после заражения, тогда как в АрпК – через 12–16 часов. Концентрация инфекционного ВКЭ оставалась выше в культуре СПЭВ на протяжении всего времени наблюдения и через 20 часов превышала таковую

в АрпК приблизительно в 15 раз – 7 lg10БОЕ/мл против 5,6 lg10БОЕ/мл соответственно.

Наращение концентрации специфического антигена начиналось через 16–20 часов после заражения и достигало максимальных значений на четвертые сутки инфекции. К этому времени концентрация антигена ВКЭ превышала как концентрацию контрольных коммерческих антигенов ($2,7 \pm 0,4$ ОЕ), так и аналитический предел тест-системы (3,5 ОЕ). После этого концентрация оставалась стабильно высокой в течение 14 дней с тенденцией к некоторому снижению к концу третьей недели инкубации. К концу эксперимента показатели серопозитивности культуральной жидкости (3,4 ОЕ) превышали таковые контрольных образцов антигена ВКЭ (в среднем 2,5 ОЕ) в 1,5 раза. Установлено, что линия клеток АрпК позволяет на-

капливать антиген ВКЭ в культуральной жидкости без смены среды в течение не менее 3-х недель.

Таким образом, новая монослойная перевиваемая линия клеток почки восточноазиатской лесной мыши *A. peninsulae* позволяет поддерживать репродукцию вируса клещевого энцефалита и накапливать вирус в культуральной жидкости в количестве 6–7,1 lg БОЕ/мл. При этом происходит выработка специфического антигена ВКЭ в количествах, сопоставимых с коммерческими антигенами ВКЭ. Полученные результаты позволяют предположить, что у *A. peninsulae* ВКЭ существует внутриклеточный механизм контроля вирусной инфекции, действующий как на стадии входа вириона в клетку, так и за счет регуляции скорости синтеза геномной и/или репликативных форм вирусной РНК.

БОНДАРЕВА О.С., ЛЕДЕНЕВА М.Л., ЛЕМАСОВА Л.В., ТКАЧЕНКО Г.А.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО НАБОРА VNTR-ЛОКУСОВ ДЛЯ MLVA-ТИПИРОВАНИЯ ШТАММОВ *BURKHOLDERIA MALLEI*

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Сап – контагиозное зоонозное особо опасное инфекционное заболевание, характеризующееся высокой летальностью, вызываемое бактерией *Burkholderia mallei*. Данная инфекция поражает преимущественно лошадей, мулов и ослов, заражение людей возможно при контакте с больными животными. К середине XX века сап считался искорененным в большинстве стран, в том числе и в России. Однако в последние годы в мире отмечается тенденция к увеличению частоты возникновения вспышек заболевания, что дает основание отнести сап к «возвращающимся» инфекциям. В период с 2000 по 2017 гг. вспышки сапа зарегистрированы на территории Индии, Бразилии, Ирака, Пакистана, ОАЭ, Монголии и даже в Бахрейне, где возбудитель *B. mallei* обнаружен впервые. Угроза завоза сапа при транспортировке зараженных животных из различных регионов, а также возможность использования *B. mallei* в качестве агента биотерроризма, обуславливают необходимость разработки оптимальных схем генотипирования штаммов данного возбудителя для определения источника инфекции в случае возникновения вспышки. Одним из широко используемых методов генотипирования является мультилокусный VNTR анализ – MLVA (Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis), который позволяет дифференцировать штаммы микроорганизмов на основе различий в количестве tandemно расположенных нуклеотидных повторов. Локусы ДНК с варибельным числом

тандемных повторов или VNTR-локусы имеют относительно высокую частоту мутаций и поэтому являются отличной мишенью для внутривидового дифференцирования штаммов.

Для генотипирования патогенных буркхольдерий методом MLVA в настоящий момент применяются различные сочетания VNTR-локусов. Наиболее полная схема MLVA-типирования, состоящая из 32 VNTR-локусов, предложена J.M. U'Ren с соавторами для генотипирования штаммов *Burkholderia pseudomallei*. Для филогенетического анализа штаммов возбудителя мелиоидоза выбрали 23 VNTR-локуса, характеризующихся отсутствием неполных повторов (U'Ren J.M. et al., 2004). Данная MLVA схема показала высокую дискриминирующую силу и эпидемиологическую значимость при типировании штаммов *B. pseudomallei* из Австралии, Папуа – Новой Гвинеи, Таиланда. Те же 23 VNTR локуса применили для анализа штаммов *B. mallei* из Пакистана, Бахрейна и ОАЭ, однако, оптимизация схемы типирования не проводилась.

Целью работы являлись поиск и оценка VNTR-локусов, оптимальных для типирования штаммов возбудителя сапа методом MLVA.

В рамках данной работы мы оценили эффективность 23 VNTR локусов для типирования штаммов *B. mallei*. Для этого сравнили стабильность амплификации и дискриминирующую силу локусов, проанализировав опубликованные генетические профили 75 штаммов возбудителя сапа (Scholz H.C.

et al., 2014). В целом исследуемые VNTR локусы амплифицировались у большинства штаммов *B. mallei*, за исключением локуса 1934, ампликоны которого регистрировали только у 28 % штаммов. Локусы 1764 и 1500 амплифицировались у 75 и 76 % штаммов соответственно, локусы 2170, 2050 и 389 детектировались у 85–94 % штаммов. Остальные 17 локусов характеризовались наличием ампликонов более чем у 95 % штаммов *B. mallei*. Дискриминирующая сила анализируемых VNTR-локусов варьировала в широком диапазоне, от нулевого значения индекса Хантера-Гастона (HGDI), что соответствовало одному аллельному варианту у всех штаммов возбудителя сапа, до значений индекса дискриминации, близких к единице, что соответствовало наличию 16–18-аллельных вариантов. Только у половины локусов значение HGDI превысило 0,7: 2170, 3152, 3652, 2050, 20, 2065, 857, 933, 3145, 389, 2356, 3091 (локусы перечислены по уменьшению HGDI). Умеренная вариабельность и значение HGDI в диапазоне от 0,48 до 0,61 характерны для локусов 2815, 1764, 397, 1934, 3564. Низкая вариабельность и значение HGDI от 0,22 до 0,4 установлены для локусов 1690, 1500, 1788. У локусов 2445, 2341, 2666 зарегистрирован только один аллельный вариант. Результаты анализа показали, что не все исследуемые локусы позволяли эффективно дифференцировать штаммы возбудителя сапа. Следовательно, использование всех 23 локусов избыточно для анализа и ведет к увеличению времени и экономических затрат MLVA-типирования. Главным критерием отбора локусов можно считать их способность к дискриминации исследуемых штаммов микроорганизмов. В связи с этим, в полной схеме типирования штаммов возбудителя сапа на основе метода MLVA целесообразно оставить 17 VNTR-локусов с умеренной и высокой вариабельностью (2170, 3152, 3652, 2050, 20, 2065, 857, 933, 3145, 389, 2356, 3091, 2815, 1764, 397, 1934, 3564). Исключение локусов с низкой дискриминирующей силой (1690, 1500, 1788, 2445, 2341, 2666) снизит себестоимость MLVA-типирования и не отразится на эффективности эпидемиологического анализа.

Сокращенная схема, предложенная для типирования штаммов возбудителя мелиоидоза, основана на анализе 4 VNTR локусов (2341, 389, 1788, 933). Данная схема показала разрешающую способность, превышающую мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), при этом была отмечена корреляция результатов эпидемиологического анализа по результатам MLVA4 и MLST (Currie B.J. et al., 2009). Однако два VNTR-локуса, входящих в данную схему, в ходе анализа показали низкую вариабельность среди штаммов возбудителя сапа, следовательно, сокращенная MLVA-схема, направленная на типирование *B. pseudomallei* не подходит для дифференциации штаммов *B. mallei*.

Для поиска локусов, оптимальных для типирования штаммов возбудителя сапа, мы проана-

лизировали *in silico* наличие и вариабельность 32 VNTR-локусов, предложенных J.M. U'Ren с соавторами, в полногеномных последовательностях четырех штаммов возбудителя сапа, доступных к тому времени в GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Нами были выбраны 10 локусов с варьирующим количеством повторов у штаммов возбудителя сапа. Определение эффективности использования данных VNTR-локусов для типирования проводили путем амплификации ДНК 14 штаммов из коллекции ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Для определения длины ампликонов использовали электрофорез в полиакриламидном геле. По результатам типирования для сокращенной схемы выбраны 6 VNTR локусов (993, 3145, 3652, 20, 1217, 2862), отличающихся успешной амплификацией и эффективностью дискриминации штаммов *B. mallei*. Для обеспечения точности и скорости получения результатов типирования использовали фрагментный анализ.

Дополнительную оценку разработанной нами MLVA-схемы проводили по результатам анализа *in silico* полногеномных последовательностей, депонированных в GenBank, 16 штаммов возбудителя сапа, которые были выделены из разных источников. При обработке данных типирования зарегистрирован большой разброс кратности повторов в определяемых локусах ДНК от 2 до 29. Длина ампликонов находилась в диапазоне от 178 до 448 п.н. Наибольшее количество аллельных вариантов (десять) выявлено у VNTR-локуса 20. Значение индекса вариабельности HGDI варьировало от 0,68 до 0,9. Наиболее эффективным оказался локус 2862. Использование разработанной 6-локусной схемы MLVA-типирования позволило выявить 28 MLVA-генотипов среди 30 штаммов *B. mallei*, что свидетельствовало о высокой дискриминирующей силе данной схемы.

В дальнейшем для оценки возможности использования сокращенной схемы MLVA6 с целью филогенетического анализа *B. mallei* сравнили дендрограммы, построенные нами по результатам типирования 75 штаммов возбудителя сапа с помощью 23-локусной и сокращенной схем MLVA-типирования. Из выбранных нами шести VNTR локусов только четыре локуса совпадали с 23-локусной системой, поэтому сравнение и оценка применимости сокращенной схемы проводилось только по ним. Установлено, что, несмотря на уменьшение числа определяемых генотипов штаммов *B. mallei*, число и состав конечных кластеров при использовании сокращенной схемы в целом остался прежним. Отличия наблюдались во взаиморасположении кластеров, а также расположении отдельных штаммов на дендрограмме. Так, например, штаммы *B. mallei*, выделенные из Бахрейна, образовывали кластер, который формировал общую ветвь со штаммами из ОАЭ. При этом взаиморасположение отдельных штаммов внутри

кластера немного отличалось от полученного на основе анализа 23 VNTR локусов. Однако штаммы из Пакистана при MLVA-типировании на основе 4 локусов разделились на кластеры абсолютно так же, как и при использовании 23 VNTR локусов. Известно, что применение большего количества локусов разделяет штаммы на большее число генотипов, обеспечивает более достоверный филогенетический анализ исследуемых изолятов и может быть использовано при клональном анализе вспышки. Однако повышение количества исследуемых локусов увеличивает время, трудоемкость и стоимость анализа, а в случае *B. mallei* типирование даже по 4

предлагаемым VNTR локусам применимо для установления источника вспышки сапа.

Таким образом, нами проанализированы результаты типирования штаммов возбудителя сапа с помощью 23-локусной MLVA-схемы и выбраны 17 VNTR-локусов умеренной и высокой вариабельностью, которые могут быть использованы при необходимости клонального анализа штаммов *B. mallei*, установления путей передачи во время вспышки инфекции. Для подтверждения наличия эндемии, определения источника вспышки сапа предложена сокращенная схема MLVA-типирования штаммов *B. mallei* на основе анализа 6 VNTR-локусов.

БОРИСЕНКО А.Ю., КУЗЬМИНОВА В.А.

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ СКРИНИНГ БАКТЕРИОФАГОВ ЧЕРЕЗ СПЕЙСЕРНЫЕ САЙТЫ CRISPR/CAS-СИСТЕМЫ ШТАММОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»,
Иркутск

Устойчивость к антибиотикам к широкому спектру патогенных микроорганизмов возрастает до угрожающе высоких уровней во всем мире. Новые механизмы устойчивости распространяются повсюду, угрожая способности лечить распространенные инфекционные заболевания. Все больше инфекций невозможно лечить из-за снижения эффективности антибиотиков. В наибольшей мере проблему обострили возбудители стафилококковых инфекций, играющие ведущие роли в инфекционной патологии за счет формирования и распространения у штаммов *Staphylococcus aureus* устойчивости к лекарственным препаратам. На фоне этих проблем распространения антибиотикоустойчивости вновь актуальной становится фаготерапия. Современные геномные и биоинформационные технологии позволяют целенаправленно моделировать процесс отбора высокоспецифичных и вирулентных фагов против патогенных микроорганизмов на основе их геномных структур и механизмов антагонистического взаимодействия посредством CRISPR/Cas – систем бактерии и анти-CRISPR фагов. В данной работе демонстрируются результаты скрининга бактериофагов через спейсерные сайты CRISPR/CAS-системы у штаммов *S. aureus*.

Цель исследования – скрининг бактериофагов через спейсерные последовательности в CRISPR-касетах штаммов *S. aureus*.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись полногеномные последовательности *Staphylococcus aureus*, загруженные из базы данных GenBank. Для поиска CRISPR/Cas-системы использовались методы программного моделирования

MacSyFinder (ver. 1.0.2). Для поиска CRISPR-кассет в геномах использовались три алгоритма поиска: PILER-CR: fast and accurate identification of CRISPR repeats, CRISPI: a CRISPR Interactive database и CRISPRFinder. На основании полученных результатов удалось наработать специфичные праймеры для амплификации CRISPR-кассет *S. aureus*, полученные последовательности были проанализированы при помощи программного алгоритма поиска: PILER-CR: fast and accurate identification of CRISPR repeats, «CRISPRTarget: a tool to explore targets of CRISPR RNAs», Mycobacteriophage Database и Phages database.

В результате анализа CRISPR-кассет штаммов *S. aureus* удалось получить расшифрованные компоненты CRISPR-кассет: до 25 спейсеров размером от 25 до 49 п.н., разделенных повторами длиной 33 н.о. На основании полученных результатов скрининга бактериофагов, идентичных спейсерам CRISPR-касеты, были обнаружены соответствия с нуклеотидными последовательностями бактериофагов, специфичных для бактерий рода *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*.

В работе впервые поисковым программным алгоритмом в геномных последовательностях *S. aureus* были выявлены сайты CRISPR-системы со структурами последовательностей – спейсеров и межспейсерных повторов; структуры и позиции CRISPR-генов; установлен тип CRISPR/Cas-системы бактерии (IIIА тип). На основании анализа полногеномных последовательностей *S. aureus* удалось наработать специфичные праймеры для амплификации CRISPR-кассет. Расшифровка полученных последовательностей ДНК (CRISPR-касеты) позво-

лила обнаружить соответствия с нуклеотидными последовательностями протоспейсеров фагов, специфичных для бактерий рода *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Bacillus*. Изучение взаимодействия бактерий с бактери-

офагами через CRISPR/Cas-систему при помощи продемонстрированного биоинформационного скрининга бактериофагов позволят создавать высокоэффективные препараты бактериофагов для практической медицины.

БОЧАЛГИН Н.О., МИРОНОВА Л.В.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

С начала 1970-х годов на территории сибирского и дальневосточного регионов из поверхностных водоемов практически ежегодно изолируются штаммы *Vibrio cholerae*. Подавляющая часть изолятов из окружающей среды на протяжении многолетних наблюдений представлена нетоксигенными вариантами (*ctxAB*⁻, *tcpA*⁻), токсигенные штаммы холерного вибриона в водных объектах обнаруживаются только при эпидемических осложнениях; наряду с этим, в редких случаях из поверхностных водоемов региона выделяются потенциально эпидемически опасные штаммы *V. cholerae* (*ctxAB*⁻, *tcpA*⁺). Взгляды на их происхождение разнятся, и важным в этой связи представляется установление их филогенетического родства с токсигенными и нетоксигенными холерными вибрионами. В отдельные годы в водных объектах обнаруживаются R-варианты холерного вибриона. Известно, что формирование шероховатой формы возбудителя холеры рассматривается как одно из направлений адаптации к условиям среды. С учетом этого, необходимо выяснение эволюционных взаимоотношений обнаруживаемых в поверхностных водоемах R-вариантов холерного вибриона с *V. cholerae* O1 серогруппы.

Целью работы явилось определение эволюционных взаимоотношений выделенных из объектов окружающей среды в Сибири и на Дальнем Востоке штаммов *V. cholerae* на основании сравнительного анализа генов домашнего хозяйства.

В работе исследовано 15 штаммов *V. cholerae*, изолированных из объектов окружающей среды в Сибири и на Дальнем Востоке. Исследованные штаммы типичны по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам. 12 из них характеризуются принадлежностью к *V. cholerae* O1 серогруппе: восемь токсигенных (группа сравнения), три потенциально эпидемически опасных и один нетоксигенный штамм; один штамм относится к *V. cholerae* non O1/O139 серогруппе и 2 штамма – к R варианту *V. cholerae*.

Мультилокусное секвенирование проводилось по модифицированной схеме, предложенной P. Garg

с соавт., включающей определение нуклеотидной последовательности семи генов «домашнего хозяйства»: *dnaE*, *lap*, *pgm*, *recA*, *gyrB*, *cat* и *chi*.

Полученные нуклеотидные последовательности анализировались в программе Unipro UGENE v.1.26.3. Для статистического анализа фрагментов генов применялась программа DNA Sequence Polymorphism v.5.10.01 (Universitat de Barcelona, Spain) и Bionumerics 6.0 (Applied Maths, Бельгия).

Кластерный анализ структуры гена *dnaE* исследуемых штаммов выявил у него существование трех аллельных вариантов. Индекс аллельного разнообразия составил 0,714, а отношение частоты несинонимичных замен к синонимичным – 0,03032, что, несмотря на наличие несинонимичных мутаций, говорит о действии стабилизирующего отбора по данному гену. Анализ мутаций показал наличие 13 замен: 6 трансверсий и 7 транзиций, 1 из которых несинонимична. Трансверсия аденина в цитозин в 951-й позиции гена трех штаммов (102-2016-N, 156-2016-N и 218-2016-N) ведет к изменению глутамата на аспарат в 317-й аминокислотной позиции, которая входит в состав α-спирали единственного домена α-субъединицы ДНК-полимеразы. Следует заметить, что данное аминокислотное замещение не влияет на термодинамическую стабильность белка и не участвует в формировании его активного центра.

Анализ нуклеотидного состава гена *cat*, как и в случае с *dnaE*, выявил наличие трех аллельных вариантов. Суммарно по гену *cat* наблюдается 8 синонимичных транзиций.

Ген *gyrB* данной выборки штаммов характеризуется наличием четырех аллелей с индексом аллельного полиморфизма равным 0,810. Большое количество мутаций (11 трансверсий и 9 транзиций), однако, характеризуется их синонимичностью в отношении кодируемых аминокислотных остатков.

При кластерном анализе гена *lap* показано три аллельных варианта с тремя синонимичными транзициями и одной несинонимичной трансверсией, приводящей к замещению аланина на серин

на поверхности лейцинаминопептидазы приморского штамма *V. cholerae* O1 217-2016-N. Серин от аланина отличается наличием гидроксильной группировки в боковой цепи. Такая замена представляется эволюционно разумной, потому что полярный незаряженный серин на поверхности белка, имея большее сродство к воде, чем аланин, увеличивает термодинамическую стабильность фермента. Индекс аллельного разнообразия здесь равен 0,714. Отношение частоты несинонимичных замен к синонимичным составляет 0,06278 и свидетельствует о стабилизирующем отборе в отношении структуры кодируемого фермента.

Кластерный анализ гена *pgt* выявил наличие четырех генотипов. Анализ мутаций показал наличие десяти синонимичных (одна трансверсия и девять транзиций) замен. Индекс аллельного полиморфизма составил 0,810.

Аллельный состав по гену *recA* у исследуемых штаммов характеризуется наличием четырех вариантов. Общее число мутаций – 16, все синонимичны, индекс полиморфизма равен 0,714.

Ген *chi* в данной выборке штаммов характеризуется наличием двух аллелей и низким индексом разнообразия (0,571). Малое количество мутаций (3 транзиции) все же не дает повода поставить под сомнение целесообразность использования его в схеме MLST, поскольку O1 серовариант по данному гену дифференцируется в отдельный генотип, отличный от такового у штаммов *V. cholerae* RO и *V. cholerae* non O1/O139.

Анализ комплекса генов домашнего хозяйства показал, что исследуемые штаммы дифференцируются на шесть сиквенс-типов. Кроме того, штаммы сходно кластеризуются и на уровне отдельных локусов. Потенциально эпидемически опасные *V.*

Cholerae O1 серогруппы относятся к двум сходным сиквенс-типам: два штамма (I-1471 и I-1501) формируют один кластер, и один штамм является носителем уникального сиквенс-типа, отличающегося от вышеописанных по семи синонимичным заменам в 1 гене. 8 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, использованных в качестве гетерологичной группы сравнения, формируют отдельный сиквенс-тип.

Сравнение штаммов *V. cholerae* O1 и R-вариантов, выделенных из оз. Соленое (г. Находка) в 2016 г. показало, что *V. cholerae* O1 217-2016-N формирует уникальный сиквенс-тип. Помимо множества синонимичных замен (в генах *lap*, *dnaE*, *cat*, *pgm*, *recA* и *gyrB*) от R-вариантов его отличает 2 несинонимичных замены в генах *lap* и *dnaE*. Кластерный анализ показал практически полное совпадение комплекса исследованных генов домашнего хозяйства у R-вариантов *V. cholerae* (102-2016-N, 156-2016-N) и штамма *V. cholerae* non O1/O139 (218-2016-N): последний отличается от R-вариантов единственной синонимичной заменой в гене В-субъединицы гиразы. Уровень гомологии описанных штаммов составляет 99,97 %.

Следует отметить, что потенциально эпидемически опасные холерные вибрионы с высоким уровнем значимости кластеризуются отдельно как от токсигенных, так и от нетоксигенных штаммов. Выделение же R-вариантов вместе со штаммами *V. cholerae* non O1/O139 в отдельную подгруппу, обособленную как от токсигенных штаммов, так и от потенциально эпидемически опасных вибрионов O1 серогруппы обусловлено глубокими структурными различиями в нуклеотидных последовательностях генов домашнего хозяйства, среди которых, в частности, присутствуют 2 несинонимичные мутации в генах ДНКазы и лейцинаминопептидазы.

БУТАКОВА Л.В. ¹, САПЕГА Е.Ю. ¹, ТРОЦЕНКО О.Е. ¹, КУРГАНОВА О.П. ²,
ПЕРЕЖОГИН А.Н. ³, ГОРЯЕВ Д.В. ⁴, ДМИТРИЕВА Г.М. ⁴

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ТУРИЗМ КАК ОДИН ИЗ ФАКТОРОВ РИСКА ОСЛОЖНЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ ФБУН Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Хабаровск

² Управление Роспотребнадзора по Амурской области, Благовещенск

³ Управление Роспотребнадзора по Иркутской области, Иркутск

⁴ Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю, Красноярск

В настоящее время международный туризм является выгодной развивающейся сферой мировой экономики и с каждым годом становится все более популярным видом отдыха среди населения. По

данным Российского союза туристической индустрии число поездок российских граждан за рубеж с целью туризма только за первое полугодие 2017 г. выросло на 56,0 % по сравнению с тем же периодом 2016 г., при этом

основным критерием выбора направления является прежде всего ценовая доступность путевок. В связи с этим, популярными странами отдыха у россиян являются страны Юго-Западной (Турция), Юго-Восточной (Вьетнам, Таиланд) и Восточной Азии (КНР).

В то же время в странах Азии наблюдается неблагополучие по энтеровирусной инфекции (ЭВИ) с регистрацией большого числа случаев экзантемных форм, в том числе везикулярного стоматита с экзантемой (HFMD), в основном вызванных энтеровирусом Коксаки А-6.

В летний сезон 2017 г. в лабораторию Дальневосточного регионального научно-методического центра по изучению ЭВИ Хабаровского НИИЭМ поступали биологические пробы из Амурской и Иркутской областей, Красноярского края от больных ЭВИ и контактных, прибывших из Турции и Вьетнама, а также из Туниса. При этом, согласно оперативным донесениям из территориальных отделов эпиднадзора заболевания возникали либо перед окончанием отдыха, либо сразу после приезда в Россию, что указывает на возможность инфицирования на курортах.

Среди клинических проявлений у двух больных детей и одного контактного в возрасте до 4-х лет, прибывших из Вьетнама в Иркутскую область, отмечались лихорадка, боли в горле, экзантема. Молекулярно-генетическим методом были получены 2 штамма энтеровируса Коксаки А-6 и 1 штамм энтеровируса С-104, который ранее в России не выявлялся.

Из Амурской области биоматериал поступал от одного больного HFMD ребенка, находившегося во Вьетнаме в период отдыха родителей. Методом секвенирования также был типирован энтеровирус Коксаки А-6.

В Красноярском крае были зарегистрированы случаи ЭВИ у двух детей в возрасте до 2-х лет и одного взрослого, прибывших из Вьетнама, у четырех детей в возрасте до 8-ми лет, приехавших из Турции, и среди членов одной семьи (2 ребенка 2-х и 7-ми лет и мать), отдохавших в Тунисе. ЭВИ у заболевших протекала в экзантемной, кишечной и катаральной формах. Во всех пробах от больных из Вьетнама были получены нуклеотидные последовательности энтеровируса Коксаки А-6. В пробах от детей, находившихся в Турции, типированы 2 энтеровируса Коксаки А-6 и 1 вирус Коксаки А-2. В материале из семейного очага заболевших, вернувшихся из Туниса, выделен энтеровирус А71 генотипа С1.

Таким образом, международные туристические потоки являются фактором риска завоза и распространения энтеровирусов на территории Российской Федерации. Для своевременного проведения комплекса противоэпидемических мероприятий необходимо повышенное внимание со стороны специалистов санитарно-карантинных и медицинских служб аэропортов, а также врачей поликлинического звена в отношении граждан, имеющих по прибытии из зарубежных поездок признаки инфекционного заболевания.

**ВАГАНОВА А.Н., ЗАРУЧЕЙНОВА О.В., САВЕЛЬЕВА Е.Л., ФРЕЙЛИХМАН О.А.,
ВЕРБОВ В.Н.**

ВЫЯВЛЕНИЕ *Mycoplasma hominis* С ПОМОЩЬЮ ПЦР В ГЕНИТАЛЬНЫХ МАЗКАХ, ПРИ ПОСЕВЕ КОТОРЫХ НА СРЕДУ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДАННОГО ПАТОГЕНА БЫЛ ПОЛУЧЕН ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора,
Санкт-Петербург

Mycoplasma hominis является условно-патогенным микроорганизмом, способным вызывать уретриты, пиелонефриты, аднекситы, хориоамниотиты, послеродовой сепсис. У новорожденных заражение *M. hominis* может привести к развитию врожденной пневмонии, менингита или абсцесса. У взрослых пациентов также возможно развитие инфекций внегенитальной локализации. С другой стороны, часто генитальные инфекции протекают без какой-либо симптоматики.

Для детекции *M. hominis* в биологическом материале применяются культуральные и молекулярно-биологические методы. В ряде исследований показано, что, как правило, молекулярно-биоло-

гические методы обладают большей чувствительностью по сравнению с культуральными методами выявления *M. hominis*.

Целью данного исследования была оценка пригодности набора «*Mycoplasma hominis* Amp» для выявления ДНК *M. hominis* в образцах с низкой инфекционной нагрузкой.

Для исследования было взято 34 генитальных мазка от 34 пациенток СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина». При посеве материала на питательную среду, проведенном в СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина», присутствия *M. hominis* не было установлено ни в одном из образцов. Было проведе-

но выделение ДНК из материала с использованием набора M-сорб-ООМ (ООО «Синтол», Москва). Полученные препараты ДНК были протестированы с использованием набора «Mycoplasma hominis Amp» (НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург). Данный набор позволяет выявлять *M. hominis* в режиме ПЦР в реальном времени с флуоресцентными зондами. Амплификация проводилась на приборе CFX96 (BioRad, США), постановка реакции и интерпретация результата проводилась согласно инструкции к набору.

Контроль качества препарата ДНК и процесса амплификации при использовании набора «Mycoplasma hominis Amp» основан на одновременной амплификации в одной пробирке ДНК патогена и ДНК человека, присутствующей в клиническом материале. Результат исследования считается положительным в случаях, когда наблюдается амплификация ДНК патогена и ДНК человека. В случаях, когда до 37 цикла не происходит амплификация ДНК человека в отсутствие амплификации ДНК патогена, результат считается отрицательным.

В 30 образцах из 34 было отмечено накопление продукта на матрице ДНК человека. Значения порогового цикла амплификации находились в диапазоне от 24 до 28, что говорит о достаточно высоких показателях клеточности генитальных мазков и свидетельствует о пригодности выбранного метода контроля качества процедуры для данной задачи. Среди этих образцов в 13 было выявлено

накопление продукта, свидетельствующего о присутствии в них генетического материала *M. hominis*.

Пороговые циклы амплификации фрагментов генетического материала *M. hominis* для большинства образцов находились в диапазоне от 34 до 37 цикла. Метод является полуколичественным, поэтому точно оценить инфекционную нагрузку с помощью него нельзя, но такие высокие показатели пороговых циклов свидетельствует о низкой инфекционной нагрузке, что согласуется с отрицательным результатом, полученным при посеве исследованных образцов.

Таким образом, среди 30 образцов, при исследовании которых был получен результат в 13 случаях, что соответствует 43 %, выявлена ДНК *M. hominis*. Подобные высокие показатели инфицированности согласуются с литературными данными, в частности с результатами, полученными при обследовании здорового населения в Португалии и Франции.

Метод ПЦР в реальном времени показал более высокую чувствительность по сравнению с культуральным методом. Он может быть рекомендован для выявления *M. hominis* в образцах с низкой инфекционной нагрузкой. Применение данного метода для обследования пациентов позволит снизить распространение *M. hominis* и риск развития серьезных заболеваний у взрослых пациентов и новорожденных детей за счет повышения выявляемости инфекции.

ВЕЩЕМОВА Т.Е.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ВЫЯВЛЕНИЮ И КЛАССИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ ПО МУТАГЕННОМУ ДЕЙСТВИЮ

Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Роспотребнадзора,
Москва

В целях разработки эффективных мероприятий по минимизации риска воздействия химических веществ и широкого информирования населения в странах Европейского союза, США и ряде других государств создаются национальные перечни веществ, потенциально опасных по тому или иному виду воздействия на организм. В Российской Федерации действует СанПиН 1.2.2353-08 «Канцерогенные факторы и основные требования к профилактике канцерогенной опасности», в котором перечислены канцерогенные вещества и производственные факторы. В основе этого документа лежат перечни и монографии Международного агентства по изучению рака (МАИР). В настоящее время подготовлен и находится на рассмотрении проект новой редакции СанПиН 2.2.0555-96 «Гигиенические требования к условиям труда женщин»,

в приложении которого представлены перечни веществ, оказывающих воздействие на репродуктивную функцию, развивающееся потомство, а также оказывающие воздействие на новорожденного с молоком матери. В настоящее время государства уделяют большое внимание мутагенному действию химических соединений. Это обусловлено медико-социальной значимостью последствий данного процесса, приводящего к онкологическим заболеваниям. В отличие от стран Европейского Союза, в которых обращающиеся вещества классифицированы по мутагенной активности и представлены в официальных нормативных актах, в Российской Федерации отсутствуют официальные перечни мутагенов. Поэтому целью наших исследований было выявление химических веществ, обладающих мутагенным действием, их классификация

и маркировка в соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ (СГС).

Нами был проведен анализ Регламента ЕС № 1272/2008 о классификации, маркировке и упаковке химических веществ и смесей (CLP) и нормативных актов Европейского союза Регламента № 1907/2006 по регистрации, оценке и авторизации химических веществ (REACH), которые позволили выделить химические вещества, классифицированные как мутагены 1 класса опасности – вызывающие наследуемые мутации или которые следует рассматривать, как если бы они вызывали наследуемые мутации в зародышевых клетках человека и 2 класса опасности – химические вещества, которые вызывают опасение за состояние здоровья людей в связи с возможностью вызывать наследственные мутации в зародышевых клетках человека. В рамках 1 класса опасности мутагены подразделяются на два подкласса:

1А – вызывающие наследуемые мутации в зародышевых клетках человека (Критериями служили: положительные результаты эпидемиологических исследований);

1В – вызывающие наследуемые мутации в зародышевых клетках человека.

Большинство веществ, указанные как обладающие мутагенным эффектом в регламенте REACH, вошли в регламент CLP, вместе с тем, были выявлены соединения, которые не вошли в CLP. Для всех выделенных мутагенов был осуществлен сбор и анализ информации о мутагенной активности.

Для сбора информации использовались базы данных АРИПС «Опасные вещества» ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, Международного агентства по изучению рака, Регистра токсических эффектов химических соединений (RTECS), Национальной системы по токсикологии США (National Toxicology Program (US NTP), Center for disease control and prevention (The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), США, База данных Европейского Химического Агентства (ECHA), Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР, chemportal.oecd).

На основании полученных данных в соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ (СГС) для соединений были установлены классы опасности по мутагенному действию. Всего было выявлено 589 веществ, обладающих мутагенным эффектом. В виду отсутствия эпидемиологических данных ни одно из веществ не было отнесено к 1А классу опасности. К 1В классу опасности было отнесено 438 веществ, среди которых: этанол, фенитоин, хлорамбуцил, хлорамфеникол, ломустин, мелфалан, флюороурацил, гризеофульвин, циклофосфамид.

Все мутагены 1В класса опасности по СГС, отнесены МАИР в группы 1 (канцерогенные для человека), 2А (весьма вероятно канцерогенные для человека) и 2В (вероятно канцерогенные для человека).

Ко 2 классу опасности по СГС отнесено 151 вещество, включая кротональдегид, 6-нитрохризен, трихлорацетальдегид, дакарбазин, дихлорметан, бромодихлорметан, гидрохлортиазид, нитрофурантион, тенипозид, митомицин. Эти вещества отнесены МАИР к группам 2А (весьма вероятно канцерогенные для человека), 2В (вероятно канцерогенные для человека), 3 (невозможно классифицировать как канцерогенные для человека).

Многие из перечисленных веществ являются действующими веществами лекарственных препаратов – цитостатических, химиотерапевтических, противоопухолевых, противозепилептических, противомикробных.

На основании всестороннего анализа отечественной и зарубежной информации подготовлен проект информационно-методического письма Роспотребнадзора, в котором приведен список мутагенов с указанием классов опасности по СГС. Создание перечня направлено на разработку управленческих решений для предотвращения и снижения риска воздействия веществ, обладающих мутагенным эффектом, на организм работающих и населения, профилактику злокачественных новообразований, а также унификацию классификации и маркировки соединений в соответствии с СГС.

ВИНОГРАДОВА А.И.

СОЗДАНИЕ ЕДИНОЙ ИНФОРМАЦИОННОЙ БАЗЫ ДАННЫХ ИНСЕКТИЦИДНЫХ СРЕДСТВ

ФБУН Научно-исследовательский институт дезинфектологии Роспотребнадзора,
Москва

Инсектицидные средства представляют собой смеси сложного состава и имеют широкую сферу применения. По данным Реестра свидетельств о государственной регистрации инсектицидных

средств, с 2010 по 2017 гг. зарегистрировано свыше 700 новых наименований. Среди них доля инсектицидных средств, изученных в НИИ Дезинфектологии, составляет значительное большинство. Реестр продукции, прошедшей государственную регистрацию, содержит сжатый информационный блок, включающий в себя: даты и номер свидетельства, название продукции, изготовителя, область применения, номера протоколов исследований и т.п. Накопленный опыт по изучению инсектицидных средств в нашем институте имеет большое научное и практическое значение, которое хотелось бы представить единым целым и доступным для специалистов различного профиля. В связи с этим, нами была разработана структура единой информационной базы данных инсектицидных средств (БДИС).

В БДИС представлена развернутая информация о средствах из архива лабораторий токсикологии и лаборатории проблем дезинсекции. База данных содержит следующие разделы: паспортную часть, которая охватывает информацию о названии средства, фирме-производителе, дате регистрации, форме средства, области применения, назначения и т.п. и токсикологическую часть, включающую в себя сведения о параметрах токсикометрии – острой и подострой токсичности при различных путях поступления в организм, раздражающем,

кожно-резорбтивном, сенсibiliзирующим действии. Кроме того, имеется блок информации, в который внесены в полном объеме научные отчеты лабораторий и инструкции по применению, в которых подробно изложены целевые объекты, нормы расхода, способы обработки, меры предосторожности при работе с ними и т.п.

Обращает на себя внимание простота заполнения базы данных, удобный поиск необходимой информации (по названию средства и/или ингредиентам, входящим в его состав, включая действующие вещества, растворители, отдушки и др.), возможность прикрепления документов в разных форматах, корректировка информации и ее доработка, а так же защита БДИС от несанкционированного доступа. В настоящее время БДИС содержит данные о 300 инсектицидных средствах, включая педикулицидные, акарицидные, универсальные препараты для борьбы с синантропными насекомыми и др.

Создание и применение единой информационной базы данных инсектицидных средств, в связи с ее наполненностью сведениями об их токсичности и опасности позволит составить оптимальный план исследования и снизить экономические и временные затраты при проведении исследований для регистрации новых инсектицидных препаратов.

**ВИШНЯКОВ В.А., КУЛИКАЛОВА Е.С., ШАРАКШАНОВ М.Б., ХУНХЕЕВА Ж.Ю.,
УРБАНОВИЧ Л.Я., ПОНОМАРЕВА А.С., БАСОВ Е.А.**

**ОПЫТ УЧАСТИЯ КОНСУЛЬТАНТОВ-НАБЛЮДАТЕЛЕЙ ОТ ИРКУТСКОГО
ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА В ТРЕНИРОВОЧНЫХ УЧЕНИЯХ ПО ВВОДУ
НА БОРТ ВОЗДУШНОГО СУДНА УСЛОВНОГО БОЛЬНОГО С ПОДОЗРЕНИЕМ
НА ОПАСНУЮ ИНФЕКЦИОННУЮ БОЛЕЗНЬ В ВОЗДУШНОМ ПУНКТЕ
ПРОПУСКА АЭРОПОРТА г. ИРКУТСК (2011–2017 ГГ.)**

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Высокоскоростные виды транспорта, прежде всего авиационный, позволяют за небольшой промежуток времени преодолевать значительные расстояния как в пределах одной страны, так и между разными государствами. Это обстоятельство значительно увеличивает риск завоза на территорию РФ инфекционных болезней, способных вызывать чрезвычайные ситуации эпидемиологического характера (далее – опасные болезни). Актуальной остается задача выявления инфекционных больных при осуществлении санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу РФ.

В международном аэропорту г. Иркутска с целью предупреждения завоза и распространения опасных болезней на территории областного центра и области ежегодно в апреле–мае

проводятся межведомственные общегородские тренировочные учения с целью оценки готовности задействованных служб к осуществлению первичных противоэпидемических и лечебно-профилактических мероприятий в случае выявления на борту воздушного судна больного с подозрением на опасную болезнь. В учениях принимают участие службы воздушного пункта пропуска в ОАО «Международный Аэропорт Иркутск», территориальные учреждения Роспотребнадзора, здравоохранения и МВД, ОГБУЗ «Иркутская станция скорой медицинской помощи» (ИССМП), ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» (ИОИКБ), специалисты дезинфекционного профиля. Ежегодно в качестве консультантов-наблюдателей в учениях участвуют специалисты эпидемиологического и микробиологического

профиля ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Цель работы: обобщение опыта участия специалистов ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора в тренировочных учениях в воздушном пункте пропуска через государственную границу РФ в международном аэропорту г. Иркутска.

В целом учения проходят на высоком организационном уровне. В ряде случаев приходится допускать некоторые условности при отработке отдельных этапов организационных и противоэпидемических мероприятий, что обусловлено необходимостью уложиться в хронометраж, предусмотренный легендой, а также создавать минимум препятствий для исполнения сотрудниками служб аэропорта своих рутинных обязанностей. При этом консультанты-наблюдатели всегда выступают за максимальное приближение учений к реальным условиям, в т.ч. за обязательную практическую отработку навыков отдельных специалистов по сбору анамнеза, лечебным мероприятиям, отбору проб клинического материала для микробиологического исследования, их правильной упаковке и доставке в лабораторию.

Для специалистов отдельных служб-участниц тренировочных учений актуальным разделом практической подготовки является отработка практических навыков по применению средств индивидуальной защиты, т.к. в реальных условиях несоблюдение алгоритмов надевания и снятия защитной одежды способно привести к инфицированию персонала.

Продолжает оставаться актуальным вопрос готовности помещений для временного пребывания нескольких десятков пассажиров воздушного судна на период до двух часов, когда формулируется управленческое решение о применении к ним мер по медицинскому наблюдению, изоляции и/или профилактическому лечению.

Отсутствие в г. Иркутске государственного учреждения дезинфекционного профиля определяет необходимость привлечения частных организаций или индивидуальных предпринимателей для проведения дезинфекционных мероприятий на борту воздушного судна и в помещениях международного аэропорта. В ходе учений установлено, что частные организации недостаточно заинтересованы в качественной отработке навыков по проведению дезинфекционных мероприятий и зачастую просто не принимали участия в учениях без объяснения причин.

Остается актуальной проблема надлежащего оборудования крытой площадки для дезинфекционной обработки санитарного автотранспорта на территории ИОИКБ, что позволит проводить эффективную дезинфекционную обработку автотранспорта в холодное время года. В 2017 г. эта проблема частично решена путем выделения изолированной секции для мойки автомашин в гараже больницы.

Опыт учений показал, что специалист СКП вынужден одновременно выполнять несколько задач в рамках осуществления санитарно-карантинного контроля и проведения первичных противоэпидемических мероприятий: определить меры в отношении больного, близких контактных лиц, остальных пассажиров (в т.ч. сопровождающие), осуществлять постоянную связь с Управлением Роспотребнадзора и службами аэропорта, принять обоснованное решение о приостановлении и возобновлении пограничного, таможенного и других видов государственного контроля, контролировать ход дезинфекционных мероприятий и оценить их качество и т.д. Очевидно, что выполнение всех этих задач одним специалистом крайне затруднительно. Учитывая также ежегодное увеличение пассажиропотока и числа международных рейсов, прибывающих в аэропорт г. Иркутска в т.ч. из стран Восточной и Юго-Восточной Азии, неблагополучных по ряду инфекционных болезней, консультантами предложено рассмотреть вопрос об увеличении числа дежурных специалистов СКП до двух, особенно в ночное время.

С учетом вышеизложенного, является необходимым ежегодное проведение в областном центре краткосрочного курса подготовки по вопросам первичных противоэпидемических мероприятий в случае выявления больного с симптомами, не исключая опасные болезни, с практической отработкой медицинскими работниками навыков использования средств индивидуальной защиты. Считаем обоснованным прохождение такого курса специалистами всех медицинских служб, привлекаемых к проведению мероприятий в рамках Комплексного плана Иркутской области по санитарной охране территории, прежде всего ИССМП, МСЧ аэропорта, врачей-инфекционистов, госпитальных эпидемиологов и главных медицинских сестер крупных лечебно-профилактических организаций Иркутска и области.

Учитывая опыт учений, специалистами ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Управлений Роспотребнадзора по Иркутской области и Красноярскому краю разработан проект методических рекомендаций «Тактика первичных противоэпидемических (профилактических) мероприятий при выявлении на борту воздушного судна больного с симптомами, не исключая инфекционные болезни, требующие проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации». Планируется внедрение документа в практику заинтересованных служб в воздушных пунктах пропуска в аэропортах Иркутска и Красноярска в 2018 г. Методические рекомендации содержат конкретные предложения для решения частых проблем, возникающих в ходе проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий: в частности, вопрос формулировки

предварительного диагноза опасной болезни, последовательность эвакуации пассажиров и членов

экипажа с борта воздушного судна, разобщение больного (больных) и контактных лиц и др.

ВОДЯНОВА М.А., ЕВСЕЕВА И.С., КУЗНЕЦОВА К.Ю., ЦАПКОВА Н.Н.

ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ПОЧВ ГОРОДА МОСКВЫ ПО САНИТАРНО-ПАЗАРИТОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Миндрава РФ,
Москва

По данным ВОЗ, паразитарными агентами поражено более 4,5 млрд. человек, причем на долю гельминтов приходится 99 %. Ежегодно в мире от них погибают 135 тыс. человек, и это число неуклонно растет. По величине ущерба, наносимого здоровью населения, гельминтозы занимают 4-е место после диареи, туберкулеза и ишемической болезни сердца. В России практически каждый человек в течение жизни переносит паразитарное заболевание, как правило, в группу риска попадают дети.

По данным Роспотребнадзора, среди геогельминтозов доминирующее положение в Москве занимает аскаридоз. За 2015 г. зарегистрировано 467 случаев аскаридоза. Болеют преимущественно дети, показатель заболеваемости среди детей до 17 лет составил 22,03 на 100 тыс. населения, среди взрослого населения – 0,66 на 100 тыс.

Кроме того, в настоящее время в Москве, как и во всей России, является актуальной проблема роста заболеваемости токсокарозом, который является самым распространенным из ларвальных геогельминтозов у детей. В 2016 г. в Москве зарегистрировано 42 случая токсокароза, заболеваемость увеличилась на 34,6 % по сравнению с 2015 г.

Причинами возникновения заражения у детей может быть геофагия (употребление в пищу земли, золы и грязи), именно поэтому токсокарозом чаще болеют дети дошкольного возраста. Прямой контакт человека с собакой также может привести к заражению через шерсть, загрязненную почвой, содержащей зрелые яйца токсокар. Группу риска составляют люди, по роду деятельности контактирующие с животными и почвой.

В настоящее время во всем мире отмечается неуклонный рост домашних питомцев, в основном собак и кошек. Эти животные являются источником и резервуаром многих зоонозов, в том числе паразитарных. При посещении рекреационных зон, парков, городских площадок, детских зон отдыха сопровождающие людей животные становятся источником загрязнения почв гельминтами, в том числе и *Toxocara cati* и *Toxocara canis*.

По официальным данным статистики в г. Москве насчитывается более 1 млн. собак, которые

ежедневно оставляют на территории города около 270 т экскрементов, содержащих более 40 тыс. яиц токсокар в каждом грамме. Учитывая, что для паразитов характерна огромная плодовитость, высокая устойчивость к воздействию факторов окружающей среды, проблема паразитарного загрязнения почв в г. Москве остается одной из самых актуальных и в настоящее время.

Таким образом, цель исследования – оценить фактические уровни загрязненности урботерриторий по санитарно-паразитологическому показателю в различных функциональных зонах.

Пробы почв отбирались в весенне-осенний период 2016 г. в рамках комплексной оценки качества почв г. Москвы. Исследованы 8 административных округов: ЦАО, САО, ВАО, ЮВАО, ЮАО, ЮЗАО, ЗАО и СЗАО по функциональным зонам, общее количество проб – 112. Исследования почвы на яйца гельминтов проводили методом Романенко, на цисты кишечных простейших – методом Падченко. Оценку результатов проводили в соответствии с СанПиН 2.1.7.1287-03 и МУ 2.1.7.730-99.

Результаты санитарно-паразитологических исследований почв г. Москвы по наличию яиц геогельминтов (экз/кг) позволили установить категорию опасности для каждой из них: 67 проб – «чистая», 29 проб – «умеренно опасная», 16 проб – «опасная», категории «чрезвычайно опасная» обнаружено не было.

Идентификация яиц геогельминтов, обнаруженных в образцах почв различных функциональных зон, позволила выявить следующие виды: в функциональных группах «аллеи» и «скверы» – *Trichostrongylidae spp.*, *Ascaris spp.*, *Trematodae spp.*, *Toxocarae spp.*; в группе «газоны» обнаружены – *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris spp.*, *Toxocarae spp.*; в группе «детские учреждения» – *Ascaris lumbricoides*, *Nanophyetus*, *Ascaris spp.* На территории функциональных зон «дороги» и «промышленная» обнаружен только один вид – *Toxocarae spp.*; в то время как в «жилой» функциональной зоне – *Toxocarae spp.*, *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris spp.*, *Trematodae spp.*, *Trichocephalus trichiurus*, *Trichostrongylidae spp.*, *Tenia spp.* а в «парковой» – *Ascaris spp.*, *Trichocephalus*

trichiurus, Trematodae spp., Trichostrongylidae spp., Dicrocoelium lanceatum.

Цисты патогенных простейших были обнаружены в 28 пробах почв, относящихся ко всем функциональным зонам, за исключением территорий детских учреждений. Идентификация цист патогенных простейших позволила выявить следующие виды: *Flagellatae spp., Cryptosporidium spp.* – функциональная группа «аллеи», *Flagellatae spp.* – «газоны», *Sporozoan spp., Flagellatae spp., Cryptosporidium spp., Lambliа spp.* – «дороги», *Cryptosporidium spp., Lambliа spp., Flagellatae spp., Balantidium spp.* – «жилая» зона, *Cryptosporidium spp., Flagellatae spp., Lambliа spp., Sporozoan spp.* – «парки», *Entamoeba coli, Balantidium spp., Lambliа spp.* – «промышленная» зона, *Lambliа spp., Cryptosporidium spp., Sporozoan spp.* – «скверы».

Цисты и вегетативные формы свободноживущих простейших (*Entamoebae spp.*) обнаружены в 41 образце проб почв, отобранных во всех функциональных зонах.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что дальнейшее интенсивное развитие городской среды, увеличение плотности жилой застройки и отсутствие контроля за бродячими и домашними животными в г. Москве приводит к контаминации инвазионным началом гельминтов почв парков, скверов, аллей, газонов и детских площадок.

В связи с этим, необходима разработка наиболее эффективных и оптимальных методов контроля и технологий очистки почв города для создания безопасных условий жизнедеятельности населения.

Существующие правила «Регламент на работы по содержанию площадок для выгула и дрессировки и мест для выгула собак» (от 29 ноября 2010 г. N 05-14-477/0), «Временные правила содержания собак и кошек в г. Москве» (от 08 февраля 1994 года N 101

с изм. и доп.) не обеспечивают и не гарантируют благоприятную санитарно-паразитологическую обстановку на территории города. Кроме того, в соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, содержанию и организации режима работы в дошкольных организациях» контроль почвы и песка проводится только на территории организованных учреждений. На практике, как правило, смена песка на проверенных объектах осуществляется 1 раз в год. Крышками оснащены только песочницы дошкольных организаций.

Следует отметить, что в мегаполисе не представляется возможным в полной мере отследить кратность и качество проведения лечебно-профилактических мероприятий проводимых владельцами домашних животных (дегельминтизация животных). Специально оборудованных площадок для выгула собак недостаточно, контроль паразитологического состояния почвы на них либо не ведется вовсе, либо ведется недостаточно часто.

Для решения вышеизложенных проблем, необходимо вести санитарно-просветительскую работу (стенды во дворах, на площадках в ветеринарных клиниках, магазинах для животных, в СМИ) с целью повышения культурного уровня владельцев домашних животных. Оборудование детских площадок с целью недопущения на них безнадзорных животных, а также организация контроля качества песка в песочницах для определения наиболее проблемных мест с регулярным проведением дезинфекции песка позволит снизить уровень заболеваемости населения гельминтозами. Также целесообразно усовершенствовать существующую систему проведения рекультивационных мероприятий в случае обнаружения паразитарных агентов в почвах и песке различных функциональных зон города.

ВОРОНИНА Е.В., ТАЛАЕВА М.В., ТАЛАЕВ В.Ю., БАБАЙКИНА О.Н., ЗАИЧЕНКО И.Е.

ЭКСПРЕССИЯ ХЕМОКИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА КЛАССИЧЕСКИХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, СТИМУЛИРОВАННЫХ ВАКЦИНАМИ *IN VITRO*

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Классические или «обычные» (conventional) дендритные клетки (ДК) являются наиболее активными антигенпрезентирующими клетками, способными вовлечь наивные Т-лимфоциты в иммунный ответ. Классические ДК человека имеют специфическую отростчатую морфологию, лишены большинства линейных маркеров лимфоцитов, моноцитов и макрофагов, но экспрессируют HLA-DR и интегрин CD11c. В незрелом

состоянии эти клетки присутствуют практически во всех тканях организма, собирая доступные для эндцитоза антигены. При созревании, вызванном распознаванием молекулярных паттернов патогенов и медиаторов воспаления, ДК увеличивают экспрессию молекул, необходимых для стимуляции Т-лимфоцитов и приобретают рецепторы к хемокинам, направляющим их миграцию в периферические лимфоидные органы для пре-

зентации антигенов и индукции иммунного ответа. Основной путь миграции несущих антигены классических ДК идет из периферических тканей по лимфатическим сосудам в Т-клеточную зону дренирующего лимфатического узла. Ключевым фактором, направляющим эту миграцию, является рецептор CCR7, распознающий хемокины CCL19 и CCL21, которые продуцируются по всему маршруту движения. Кроме того, некоторые ДК дермы и маргинальной зоны селезенки экспрессируют хемокиновый рецептор CXCR5 и при адаптивном переносе мигрируют в В-клеточную зону лимфоидных органов, где продуцируется лиганд этого рецептора – хемокин CXCL13.

Ранее мы обнаружили, что вакцины, стимулирующие клеточный и гуморальный ответ, индуцируют различные наборы хемокиновых рецепторов на ДК, полученных из моноцитов *in vitro*. В данной работе мы исследовали действие вакцин против туберкулеза и гепатита В на экспрессию хемокиновых рецепторов на классических ДК, созревших в организме и выделенных из крови магнитной сепарацией. Показано, что туберкулезная вакцина БЦЖ индуцирует мощную экспрессию хемокинового рецептора CCR7 на подавляющем большинстве классических ДК, тогда как вакцина против гепатита В вызывает коэкспрессию CCR7 и CXCR5 на ограниченном количестве клеток.

В работе использовали живую туберкулезную вакцину БЦЖ (Микроген, Москва) и рекомбинантную дрожжевую вакцину против гепатита В (ВПГВ) (ЗАО НПК «Комбиотех», Москва). 1 доза вакцины БЦЖ содержала 50 мкг лиофилизированных бактерий штамма БЦЖ-1 ($2-4 \times 10^7$ живых бактерий). 1 доза ВПГВ содержала 10 мкг рекомбинантного HBs антигена, сорбированного на 250 мкг гидроксида алюминия. Перед использованием ВПГВ трижды отмывали от мертиолята средой RPMI-1640 с помощью центрифугирования. Для получения обогащенных проб классических ДК из венозной крови взрослых здоровых доноров выделяли мононуклеарные клетки (МНПК) традиционным способом над слоем Nystopaque-1077 (Sigma, США) и разделяли их магнитной сепарацией с негативной селекцией с использованием набора Human Myeloid DC Enrichment Kit в соответствии с инструкцией производителя (Stemcell Technologies, США). Фенотип свежесыведенных ДК определяли с помощью проточной цитометрии, окрашивая клетки флуоресцентными конъюгатами моноклональных антител к молекулам: HLA-DR, CD14, CD3 (Сорбент, Москва), CD11c, CD80, CD83, CD86, CD275 (ICOSL), CCR7 и CXCR5 (eBiosciences, США), CD19 (Beckman Coulter, США), CD45, CD16, CD56 (BD Biosciences, США). При анализе ДК последовательно гейтировали по профилю прямого и бокового светорассеяния (FSC/SSC) и наличию HLA-DR. Обогащенные ДК культивировали в среде RPMI-1640 (Gibco, Великобритания) с 10%-ной инактивированной

фетальной телячьей сывороткой (PAA Laboratories, Австрия) в 96-луночных плоскородонных планшетах (Costar, США) при концентрации 3×10^5 клеток в мл (6×10^4 клеток на лунку).

Также в работе использовались незрелые ДК, полученные из моноцитов крови традиционным способом. Для этого из МНПК выделяли моноциты адгезией на 24-луночных планшетах (Costar, США) и культивировали их 7 суток в присутствии рекомбинантных ИЛ-4 и ГМ-КСФ, которые добавляли в концентрациях 20 и 100 нг/мл, соответственно, при засевах и на 3 сутки культивирования. Для оценки фенотипа незрелых моноцитарных ДК клетки окрашивали флуоресцентными конъюгатами моноклональных антител к молекулам: HLA-DR (Сорбент, Москва), CD80, CD83, CD86, CD275 (ICOS-L), CCR7 и CXCR5 (eBiosciences, США). При цитометрическом анализе моноцитарные ДК гейтировали по FSC/SSC.

ДК, выделенные из крови, и моноцитарные ДК стимулировали вакцинами в конечной концентрации 0,2 дозы/мл. Контролем служили нестимулированные ДК. Клетки культивировали 48 ч при 37 °C и 5 % CO₂, собирали, отделяли от ВПГВ центрифугированием над слоем 85 % перколла (Sigma, США) и использовали для цитометрического исследования, окрашивая флуоресцентными конъюгатами моноклональных антител к молекулам HLA-DR, CCR7 и CXCR5. Результаты проточной цитометрии обрабатывали с помощью программного обеспечения CellQuest. Статистический анализ проводили с использованием *t*-теста Стьюдента для зависимых и независимых выборок.

С помощью магнитной сепарации с негативной селекцией из МНПК получали пробы, обогащенные классическими ДК. Количество клеток в пробах после разделения составляло $0,50 \pm 0,06$ % от числа исходных МНПК. Цитометрический анализ выделенных проб показал, что составляющие их клетки фенотипически неоднородны, и доля целевой популяции HLA-DR⁺CD11c⁺ классических ДК составляет $48,8 \pm 9,9$ % от общей численности клеток в пробах. В связи с этим, нам потребовалось выбрать схему гейтирования классических ДК с типичным фенотипом для отделения целевой популяции от примеси на стадии анализа данных цитометрии. Для этого, оказалось, достаточно последовательно выделить крупные клетки по профилю FSC/SSC, а затем среди них выделить клетки с высоким уровнем экспрессии HLA-DR. Практически все клетки данного гейта демонстрировали типичный фенотип классических ДК. Наряду с высоким уровнем экспрессии HLA-DR эти клетки несли маркер CD11c и экспрессировали общий лейкоцитарный маркер CD45. В то же время, эти клетки были лишены линейных маркеров моноцитов (CD14), Т-лимфоцитов (CD3), В-лимфоцитов (CD19) и естественных киллеров (CD16 и CD56). Данную схему гейтирования классических ДК мы использовали для дальнейшего анализа.

Оценка фенотипа свежевыделенных классических ДК крови показала, что эти клетки слабо экспрессируют маркер зрелых ДК – молекулу CD83, а также костимулирующую молекулу CD80. $55,3 \pm 7,2$ % клеток экспрессировали костимулирующую молекулу CD86, но интенсивность флуоресценции этих CD86⁺ клеток была крайне низкой, что говорит о малом количестве молекулы CD86 на поверхности клеток. Слабая экспрессия костимулирующей молекулы ICOSL была обнаружена на $10,8 \pm 2,7$ % классических ДК. Анализ экспрессии хемокиновых рецепторов показал отсутствие CCR7 на свежевыделенных ДК и крайне слабую экспрессию CXCR5, обнаруженную лишь на $2,9 \pm 0,7$ % ДК.

Поскольку в работах, посвященных ДК, традиционным объектом исследования являются клетки, полученные из моноцитов *in vitro*, мы сочли необходимым сравнить фенотип классических ДК крови с незрелыми моноцитарными ДК. Существенным оказалось различие экспрессии костимулирующей молекулы CD80, она экспрессировалась на подавляющем большинстве моноцитарных ДК и практически отсутствовала на классических ДК крови. По нашим наблюдениям, значительный рост экспрессии CD80 на моноцитарных ДК наблюдается к концу их созревания из моноцитов, тогда как на 3 сутки культивирования эти клетки обладают относительно слабой экспрессией CD80. Костимулирующая молекула ICOSL также обнаруживалась на большей доле незрелых моноцитарных ДК по сравнению с ДК крови. Небольшая часть клеток из культур незрелых моноцитарных ДК приобретала маркеры терминального созревания – CD83 и CCR7, тогда как на ДК крови экспрессия этих молекул была низкой или отсутствовала. Таким образом, выделенные из крови классические ДК демонстрируют фенотип незрелых ДК, причем уровень экспрессии большинства функционально значимых молекул у этих клеток ниже, чем у незрелых моноцитарных ДК.

Культивирование проб, обогащенных классическими ДК, в течение двух суток без стимуляции не изменяло слабой экспрессии CXCR5, но приводило к появлению небольшой группы CCR7⁺CXCR5⁻ ДК. Численность этой группы составляла $7,9 \pm 2,4$ % от всех ДК. Инкубация с БЦЖ индуцировала сильный рост экспрессии CCR7 на ДК без заметной стимуляции экспрессии CXCR5. В результате, CCR7⁺CXCR5⁻ клетки становились доминирующей группой ДК к 48 ч культивирования с БЦЖ. В отличие от этого, обработка вакциной гепатита В индуцировала меньший прирост количества CCR7⁺CXCR5⁻ клеток, но вела к появлению относительно небольшой, но заметной популяции CCR7⁺CXCR5⁺ ДК. Численность CCR7⁺CXCR5⁺ клеток составляла $10,0 \pm 2,3$ % от общего количества ДК.

При действии на моноцитарные ДК вакцина БЦЖ вызывала достоверный, но очень слабый рост экспрессии CCR7 и не индуцировала экспрессию

CXCR5. ВПГВ также индуцировала меньшее увеличение количества CCR7⁺CXCR5⁻ клеток среди моноцитарных ДК по сравнению с классическими ДК крови. В то же время, стимуляция моноцитарных ДК с помощью ВПГВ вела к появлению в культуре группы CCR7⁺CXCR5⁺ клеток, сходной по численности с аналогичной группой в культурах ДК крови. Концентрация этих клеток в стимулированных культурах моноцитарных ДК составила $8,5 \pm 2,5$ %.

Работа посвящена исследованию действия вакцин на экспрессию хемокиновых рецепторов на классических ДК, созревших в организме человека и циркулирующих в крови. Первый этап работы мы посвятили характеристике степени зрелости ДК крови, чтобы убедиться в том, что эти клетки пригодны для стимуляции вакцинами. Было показано, что выделенные из крови классические ДК демонстрируют фенотип незрелых ДК. Они имеют низкий уровень экспрессии CD86 и ICOSL, практически не экспрессируют CD80 и маркеры зрелых ДК – CD83 и CCR7. Отсутствие значимого количества хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5 на свежевыделенных ДК свидетельствует о том, что миграция этих клеток без дополнительной стимуляции не нацелена на заселение лимфоидных тканей. Выделенные из крови ДК уступают незрелым моноцитарным ДК по экспрессии большинства маркеров созревания. Тем не менее, 2-суточная инкубация ДК крови с вакцинами вызывает изменения экспрессии хемокиновых рецепторов, обеспечивающих миграцию в лимфоидные органы. Вакцина БЦЖ индуцирует мощную экспрессию CCR7 на большинстве ДК крови, не оказывая влияния на экспрессию CXCR5. Такие изменения должны способствовать миграции ДК в Т-клеточные зоны лимфоидных органов. ВПГВ слабее стимулирует экспрессию CCR7, однако около 10 % клеток приобретают экспрессию не только CCR7, но и CXCR5. По нашему мнению, такие CCR7⁺CXCR5⁺ ДК обладают большей свободой выбора конечной точки миграции и в результате могут оказаться не только в Т-клеточных, но и в В-клеточных зонах лимфоидных органов. Такой тип миграции, индуцированной ВПГВ, представляется выгодным для этой вакцины, стимулирующей гуморальный иммунитет.

Реакция моноцитарных ДК на вакцины заметно отличалась от реакции ДК, выделенных из крови. Различие проявлялось в чрезвычайно слабом росте количества CCR7⁺CXCR5⁻ клеток в культурах моноцитарных ДК, стимулированных вакциной БЦЖ или ВПГВ. Различия могут быть связаны как с функциональной спецификой ДК крови, так и со свойствами моноцитарных ДК, связанных с их «искусственным» созреванием *in vitro*. Тем не менее, данное наблюдение свидетельствует о невозможности механистической экстраполяции данных, полученных в экспериментах с моноцитарными ДК, на все группы ДК организма, а также о целесообразности использо-

вания в исследованиях не только созревших *in vitro* моноцитарных ДК, но и ДК, созревших в условиях организма. Показано, что туберкулезная вакцина БЦЖ индуцирует мощную экспрессию хемокиново-

го рецептора CCR7 на подавляющем большинстве классических ДК крови, тогда как вакцина против гепатита В вызывает коэкспрессию CCR7 и CXCR5 на ограниченном количестве клеток.

ВОРОНИНА Е.В., ТАЛАЕВА М.В., ТАЛАЕВ В.Ю., БАБАЙКИНА О.Н., ЗАИЧЕНКО И.Е., ТАЛАЕВА Е.Б.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ CCR6⁺ И CCR9⁺ Т-ХЕЛПЕРОВ ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Болезнь Крона (БК) – иммунологически опосредованное воспалительное заболевание кишечника с хроническим рецидивирующим течением, способное поражать любые участки желудочно-кишечного тракта, но чаще всего затрагивающее слизистую тонкого кишечника или, одновременно, тонкого и толстого кишечника. Данное заболевание развивается при действии провоцирующих факторов на фоне различных вариантов генетической предрасположенности. Большинство генов, ассоциированных с БК, обуславливают нарушения барьерной функции эпителия или клеток врожденного иммунитета. В свою очередь, эти нарушения приводят к общим элементам патогенеза – росту проницаемости кишечной стенки для микроорганизмов и их антигенов (АГ) и развитию иммунного ответа на АГ микрофлоры. Несмотря на наличие гуморального иммунного ответа на АГ флоры при БК, основную роль в индукции мощного воспаления и повреждения кишечника играют Т-хелперы (Тх) Тх1 и Тх17, а также клетки со смешанными признаками этих субпопуляций. Они инфильтрируют слизистую, продуцируют TNF- α , INF- γ , IL-17 и IL-22 и, по-видимому, вовлекают в процесс продукции провоспалительных цитокинов другие клетки кишечника. По нашему мнению, определенную помощь в исследовании патогенеза БК и поиске новых способов диагностики и лечения может оказать идентификация в крови субпопуляций Т-хелперов с признаками вовлечения в иммунный ответ при заболевании. В данной работе с помощью оценки экспрессии хемокиновых рецепторов выявлены группы Т-хелперов, способных к миграции в кишечник и увеличивающих свое содержание при БК, а также оценена степень их зрелости.

Обследовали подростков с БК ($N = 10$, возраст от 12 до 17 лет, средний возраст $15,0 \pm 0,7$ лет) и детей группы сравнения без БК ($N = 10$, возраст от 11 до 17 лет, средний возраст $13,8 \pm 1,2$ лет). Степень тяжести БК оценивалась как тяжелая (40 %) или средняя (60 %). Исследования проводили с помощью много-

цветной лазерной проточной цитофлуориметрии. Клетки крови пациентов с БК и лиц группы сравнения окрашивались мечеными моноклональными антителами: к молекулам CD4 (Сорбент, Москва), мечеными флюоресцеинизотиоцианатом, к CD45RO, мечеными PerCPeFluor710 (eBiosciences, США), к CD45RA (Beckman Coulter, США), CCR6 или CCR9 (eBiosciences, США), мечеными фикоэритрином, к CCR7, CXCR5, ICOS или PD1, мечеными аллофицианином (eBiosciences, США). Всего из образца крови получали 12 проб, окрашенных 4 антителами (включая соотв. контроли). Затем пробы клеток обрабатывали лизирующим эритроциты раствором BD FACS Lysing Solution (BD Biosciences, США), отмывали и фиксировали 1%-ным параформальдегидом. Анализ проводили на лазерном проточном цитофлуориметре FacsCalibur (BD Biosciences, США), последовательно гейтируя лимфоциты, CD4⁺ лимфоциты (используя гетерологичное гейтирование в осях FL-1/SSC), CD45RO⁻ и CD45RO⁺ Т-хелперы. Затем оценивали количество клеток, несущих комбинации исследуемых маркеров, как долю (%) от общего количества лимфоцитов или как долю от CD4⁺CD45RO⁻ и CD4⁺CD45RO⁺ Т-лимфоцитов. Результаты проточной цитометрии обрабатывали с помощью программного обеспечения CellQuest (BD Biosciences, США). Статистический анализ проводили с использованием *t*-теста Стьюдента.

С помощью лазерной проточной цитометрии у пациентов с БК и лиц группы сравнения оценивали степень зрелости циркулирующих в крови CD4⁺ Т-клеток и экспрессию на них хемокиновых рецепторов, способных направить миграцию клеток в ткани кишечника или в лимфоидные органы. При анализе результатов цитометрии последовательно гейтировали лимфоциты и CD4⁺ лимфоциты, которые затем разделяли на 2 группы по экспрессии молекулы CD45RO. Подавляющее большинство CD4⁺CD45RO⁻ клеток экспрессировало молекулу CD45RA и хемокиновый рецептор CCR7, что соответствует фенотипу наи-

вных Т-хелперов (нТх). Клетки этой группы обладали низким уровнем экспрессии молекулы ICOS, характерной для активированных Т-хелперов. Слабая экспрессия молекулы PD1, характерной для зрелых Т-хелперов, обнаруживалась на крайне малой части CD4⁺CD45RO⁻ клеток. CD4⁺CD45RO⁺ клетки представляли зрелые группы Т-хелперов: CCR7⁺ центральные Т-клетки памяти и CCR7⁻ эффекторы и эффекторные Т-клетки памяти. Подавляющее большинство CD4⁺CD45RO⁺ клеток было лишено молекулы CD45RA. Существенная часть клеток экспрессировала молекулы ICOS и PD1. Фенотипический анализ лимфоцитов выявил небольшое, но достоверное увеличение концентрации CD4⁺ Т-лимфоцитов и значительный рост количества CD45RO⁺ Т-хелперов в крови у пациентов с БК. Доля CD4⁺CD45RO⁺ клеток среди всех лимфоцитов крови при БК увеличивалась по сравнению с контрольной группой более чем в 2 раза (до 20,2 % при 9,8 % в группе сравнения, $p = 0,0001$).

Анализ экспрессии хемокиновых рецепторов CCR6, CCR7, CCR9 и CXCR5 на CD4⁺CD45RO⁺ Т-клетках выявил небольшой, но достоверный рост количества клеток, несущих CCR6. Этот рецептор обеспечивает миграцию Т-лимфоцитов, как в кожу, так и в желудочно-кишечный тракт, а варианты полиморфизма его гена ассоциированы с риском развития БК. Для выявления субпопуляции клеток, значительно увеличивающих свою долю в структуре CD4⁺CD45RO⁺ Т-лимфоцитов, потребовался более подробный анализ. Такой субпопуляцией оказалась группа зрелых эффекторов/эффекторных клеток памяти с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁻CCR6⁺. Доля этих клеток среди CD4⁺CD45RO⁺ лимфоцитов у пациентов с БК по сравнению с контрольной группой увеличивалась в 2 раза до 21,3 % ($p = 0,0004$), а их общее содержание среди всех лимфоцитов возрастало с 1,0 до 4,4 % ($p = 0,0002$). Сходным образом увеличивалось количество CD4⁺CD45RO⁺CXCR5⁻CCR6⁺ Т-клеток и CD4⁺CD45RO⁺ICOS⁻CCR6⁺ клеток. Незрелые CD4⁺CD45RO⁻ Т-клетки не экспрессировали хемокиновый рецептор CCR6 ни при БК, ни в группе сравнения.

Известно, что практически все Тх17 несут на своей мембране CCR6, однако этот рецептор нельзя считать специфическим маркером Тх17, поскольку лишь около 30 % CD4⁺CCR6⁺ Т-лимфоцитов крови являются зрелыми Тх17, способными продуцировать IL-17A и/или IL-22 после стимуляции. Вероятно, CD4⁺CCR6⁺ лимфоциты являются гетерогенной группой, состоящей из созревших Тх17 и клеток, вступивших на путь созревания Тх17, но не достигших функциональной зрелости или изменивших направление дифференцировки в силу выраженной пластичности Тх17. Пластичность Тх17 при БК может иметь особое патогенетическое значение, поскольку при этом заболевании у человека в слизистой кишечника обнаруживается

группа клеток, совмещающих признаки Тх17 и Тх1, а сам факт формирования этой субпопуляции из Тх17 продемонстрирован в модели переноса Тх17 в иммунодефицитных мышьях, что ведет к развитию колита, при котором в слизистой появляются клетки со смешанными свойствами Тх17 и Тх1.

Другим хемокиновым рецептором, обеспечивающим миграцию Т-лимфоцитов крови в тонкий кишечник, является CCR9. Несмотря на имеющиеся в литературе данные об увеличении количества CD4⁺CCR9⁺ клеток в крови при БК с поражением тонкого кишечника, нам не удалось обнаружить соответствующие изменения. Также мы не обнаружили роста количества CCR9⁺ клеток в субпопуляции зрелых CD45RO⁺ Т-хелперов, и лишь среди CD45RO⁻ Т-хелперов при БК наблюдалась недостоверная тенденция к увеличению доли CCR9⁺ клеток. После исключения из группы больных с БК единственного пациента, у которого тонкий кишечник не был затронут воспалительным процессом, различия доли CCR9⁺ клеток среди CD45RO⁻ Т-хелперов несколько увеличились и стали достоверными ($p = 0,044$). Яркое различие в содержании CCR9⁺ клеток проявлялось при одновременной оценке экспрессии CCR9 и CCR7. Количество CD4⁺CD45RO⁻CCR7⁺CCR9⁺ клеток в структуре группы CD45RO⁻ Т-хелперов увеличивалось с $24,0 \pm 4,9$ % в группе сравнения до $36,2 \pm 6,3$ % в общей группе БК ($p = 0,042$) или до $40,4 \pm 4,9$ % в группе БК с поражением тонкого кишечника ($p = 0,006$). Однако речь идет лишь об увеличении доли CD4⁺CD45RO⁻CCR7⁺CCR9⁺ в структуре наивных CD4⁺CD45RO⁻ Т-хелперов, тогда как содержание этих клеток среди всех лимфоцитов крови при БК и в группе сравнения не различалось, что связано с уменьшением концентрации CD45RO⁻ Т-хелперов в крови при заболевании. В структуре CD4⁺CD45RO⁻ Т-хелперов при БК увеличивалась доля CXCR5⁺ клеток, а также немногочисленных групп клеток с фенотипом CXCR5⁺CCR9⁺ и CXCR5⁺CCR9⁻. CD4⁺CD45RO⁻CXCR5⁺CCR9⁻ Т-клетки увеличивали не только свою долю в структуре нТх, но и общее содержание в крови среди всех лимфоцитов. Роста экспрессии CCR9 в группе зрелых CD45RO⁺ Т-хелперов при БК не наблюдалось.

Рецептор CCR9 отвечает за миграцию Т-хелперов в слизистую тонкого кишечника, где секретируется его лиганд – хемокин CCL25. Соответственно, большинство Т-хелперов, инфильтрирующих слизистую тонкого кишечника в норме и при БК, являются CCR9⁺ клетками. Однако практически все эти клетки в кишечнике имеют фенотип зрелых эффекторов/клеток памяти, тогда как обнаруженный нами прирост CCR9⁺ Т-хелперов при БК ограничен группой клеток с фенотипом нТх. Кроме того, считается, что параметры хоминга в периферические ткани формируются в ходе взаимодействия с антигенпрезентирующими клетками. В соответствии с этим, мы предположили, что часть CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁺ клеток была активиро-

вана АГ и находится на ранних этапах созревания эффекторов, не утратив при этом фенотипические признаки нТх, а окончательное «дозревание» этих клеток происходит в слизистой тонкого кишечника, куда они мигрируют из кровотока благодаря экспрессии CCR9. В связи с этим мы попытались уточнить активационный статус CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁺ клеток при БК и в группе сравнения. Для этого сравнивали экспрессию молекул ICOS и PD1 на CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁺ и CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁻ лимфоцитах. Как у пациентов с БК, так и у лиц группы сравнения CCR9⁺ клетки экспрессировали молекулу ICOS сильнее, чем CCR9⁻ клетки. Экспрессия PD1 на CD4⁺CD45RO⁻ была слабой, однако и эта молекула сильнее экспрессировалась в CCR9⁺ подгруппе клеток. CXCR5 также сильнее экспрессировался в CCR9⁺ подгруппе CD4⁺CD45RO⁻ Т-клеток. Кроме того, CXCR5 при БК экспрессировался сильнее, чем в группе сравнения как на CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁺, так и на CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁻ лимфоцитах. Рецептор CXCR5 обеспечивает миграцию Т- и В-лимфоцитов в В-клеточные зоны лимфоидных органов, и его экспрессия на зрелых, CD45RO⁺CCR7⁻ Т-лимфоцитах периферических лимфоидных органов маркирует субпопуляцию Т-фолликулярных хелперов (Тфх). В периферической крови основной группой Т-хелперов, экспрессирующих CXCR5 являются клетки с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁺, гетерогенные по цитокиновому профилю и включающие

подгруппы со смешанными признаками Тфх и Тх17, Тфх и Тх2, а также Тх1-подобные клетки. Функциональный статус CD4⁺CD45RO⁻CXCR5⁺ не определен, но известно, что CXCR5 очень быстро экспрессируется после антигенной стимуляции, поэтому возможно экспрессия CXCR5 на клетках с фенотипом нТх является следствием их недавней активации и придает клеткам большую свободу выбора пути миграции в различное микроокружение, что может отразиться на их дальнейшей дифференцировке.

Таким образом, повышенную экспрессию ICOS, CXCR5 и PD1 в CCR9⁺ подгруппе CD4⁺CD45RO⁻ Т-клеток можно рассматривать как проявление недавней активации этих клеток, а повышенную экспрессию CXCR5 на CD4⁺CD45RO⁻ клетках при БК – как следствие усиленного вовлечения нТх в иммунный ответ при заболевании.

Выявлены группы CD4⁺ лимфоцитов с маркерами хоминга в кишечник, которые увеличивают свое содержание в крови при БК у детей и подростков. При БК в крови значительно увеличивается концентрация зрелых CD45RO⁺ Т-хелперов и, особенно, зрелых Т-хелперов с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺CCR7⁻CCR6⁺, CD4⁺CD45RO⁺CXCR5⁻CCR6⁺ и CD4⁺CD45RO⁺ICOS⁻CCR6⁺. В структуре CD4⁺CD45RO⁻ Т-лимфоцитов увеличивается доля CCR9⁺CCR7⁺, CCR9⁺CXCR5⁺ и CCR9⁻CXCR5⁺ клеток, при этом CD4⁺CD45RO⁻CCR9⁺ клетки демонстрируют признаки активации.

ВОЙТКОВА В.В., КОРЫТОВ К.М., КОРНЕВА А.В., ДУБРОВИНА В.И.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА БЕЛЫХ МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫМИ ОБОЛОЧКАМИ *FRANCISELLA TULARENSIS* РАЗНЫХ ПОДВИДОВ

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Возбудитель туляремии, *Francisella tularensis*, включен в список потенциально опасных агентов биотерроризма с высшей категорией опасности «А», что, несомненно, говорит об актуальности широкого исследования механизмов вирулентности возбудителя туляремии и поиска путей создания эффективной вакцины против этой болезни.

Не вызывает сомнения тот факт, что некоторые антигенные детерминанты на поверхности клеток туляремийного микроба, в частности липополисахариды, обладают высокой протективной активностью, что обуславливает возможность использования поверхностных структур в качестве компонентов безопасных и эффективных профилактических и диагностических препаратов. Однако, структура липополисахаридов и состав белков наружной мембраны у подвидов *F. tularensis*

различны, что может оказывать влияние на вирулентность бактерий и, как следствие, на иммунногенность субклеточных фракций.

Поскольку баланс показателей клеточного звена иммунитета является важнейшим условием поддержания эффективного иммунного ответа на внедрение патогена или его антигенов целью настоящей работы явилось изучение влияния препаратов клеточных оболочек *F. tularensis* разных подвидов на функциональное состояние и субпопуляционный состав клеток крови белых мышей.

Исследование проводили на 144 сертифицированных (НПО «Вектор», Новосибирск) беспородных белых мышах, стандартных по условиям содержания и массе (15–20 г).

В качестве объектов исследования использовали 5 препаратов клеточных оболочек (КО)

F. tularensis, полученных из штаммов живых культур *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 – группа 1, *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61 – группа 2, *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole – группа 3, *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 – группа 4, *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ – группа 5, находящихся в коллекции музея живых культур ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Обеззараженные препараты клеточных оболочек получали лизисом живых клеток *F. tularensis* раствором мочевины.

Подопытным животным подкожно вводили препараты КО в дозе 95 мкг по белку в 0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР) pH 7,2. Контролем служили белые мыши, получившие ЗФР в объеме 0,2 мл – группа 6. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (GLP) (утв. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 N 267). Учет результатов проводили на 3, 7, 14 и 21 сутки.

Фенотип клеток крови мышей определяли методом пятипараметрического фенотипирования с использованием реагентов фирмы Becton Dickinson (США): CD45-APC, CD3-FITC, CD4-Alexa-700, CD8-APC-Cy7, CD19-PE-Cy7, CD69-PE-Cy5. Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva версии 6.0.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных непараметрических методов (Mean ± SD). Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

В ходе экспериментов установлено, что показатели абсолютного содержания лейкоцитов у экспериментальных животных, иммунизированных КО *F. tularensis*, находились в пределах физио-

логической нормы ($5,1$ до $11,6 \times 10^9$ кл/л). Тем не менее, установлена тенденция к понижению средних количественных показателей лейкоцитов крови у мышей, иммунизированных КО *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306, на 3 сутки по сравнению с контролем ($7,4 \pm 2,2 \times 10^9$ кл/л, $p = 0,06$). Установлено, что исследуемые препараты не оказывали влияния на процентное содержание гранулоцитов и лимфоцитов. Вместе с тем, отмечено увеличение клеток моноцитарного ряда на 3 и 7 сутки у мышей, получивших КО *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61, а в случае КО *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 – на 3, 7 и 14 сутки, КО *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 и *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ – 3, 7, 14 и 21 сутки в среднем в 1,6 раза по сравнению с контролем ($1,8 \pm 0,48 \%$, $p \leq 0,05$).

При оценке функционального состояния лейкоцитов отмечено повышение моноцитов, экспрессирующих на своей поверхности маркер пролиферации клеток CD69, на 3 и 7 сутки у мышей 2-й и 5-й групп и только на 3 сутки в 1-й, 3-й и 4-й группах по сравнению с интактными животными ($14,3 \pm 5,92 \%$, $p \leq 0,05$). Аналогичное изменение было отмечено в отношении гранулоцитов на 3 сутки во всех группах наблюдения в среднем в 3,0 раза по сравнению с контролем ($10,4 \pm 3,9 \%$, $p \leq 0,05$).

У животных, иммунизированных КО *F. tularensis* разных подвидов, наблюдалось перераспределение клеточного баланса субпопуляций лимфоцитов в сторону В-лимфоцитов на 14 и 21 сутки наблюдения.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что клеточные оболочки *F. tularensis* не зависимо от подвиговой принадлежности оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию моноцитов и гранулоцитов белых мышей, а также на формирование гуморального иммунитета.

ГЕНЕРАЛОВ С.В., ГАВРИЛОВА Ю.К., КИРЕЕВ М.Н., ГАЕВА А.В., АБРАМОВА Е.Г.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА НУКЛЕОПРОТЕИНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Вирус бешенства (*rabies virus*) является представителем семейства *Rhabdoviridae*, рода *Lyssavirus*. Бешенство – одна из наиболее древних инфекций человека и животных. Почти у всех млекопитающих и человека вирус вызывает энцефалит с тяжелыми неврологическими симптомами. Геном вируса представляет собой одноцепочную РНК и состоит из пяти участков, ответственных за синтез нуклеопротеина, фосфопротеина, матричного белка, гликопротеина и большого L-белка.

Нуклеопротеин вируса бешенства представляет собой фосфорилированный полипептид, состоящий из 450 аминокислот. Вместе с РНК, фосфопротеином РНК-зависимой РНК-полимеразой образует рибонуклеопротеин. Рибонуклеопротеин является основной субъединицей, участвующей в транскрипции и репликации вирусной РНК.

Аминокислотная последовательность нуклеопротеина является самой стабильной из белков вируса бешенства. Нуклеопротеин обладает специфическими антигенными детерминантами,

характерными для всех вирусов бешенства и даже родственных вирусов. Именно поэтому перспективным направлением является применение нуклеопротеина для конструирования диагностических тест-систем для индикации вируса бешенства, а также оценки его активности и определения уровня антирабических антител при производстве антирабического иммуноглобулина.

Цель настоящего исследования состояла в разработке способа выделения и очистки нуклеопротеина вируса бешенства.

Большинство биологических и иммунологических функций вируса зависят от его структурной целостности, поэтому любые методы разделения и очистки вирусных субъединиц должны как можно меньше влиять на их состав и структуру.

Особенностью нуклеопротеина является сложность его выделения непосредственно из вирусных частиц. Более эффективным подходом является выделение нуклеопротеина из цитоплазмы клеток, в которых происходит репродукция вируса бешенства. Предлагаемый способ выделения и очистки нуклеопротеида состоит в следующем.

Культуру клеток Vero предварительно выращивали в культуральных флаконах до стадии конфлюэнтного монослоя. Затем в культуру вносили аттенуированный вирус бешенства (штамм «Москва 3253»), адаптированный к выращиванию на

перевиваемой клеточной культуре. Вирус выращивали на клетках от 48 до 72 ч при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Затем культуральную жидкость удаляли, а клетки открепляли с поверхности флакона с помощью скребка, суспендировали в питательной среде. Полученную суспензию инкубировали на водяной бане при 56 °С в течение 30 минут для полной инактивации вируса бешенства. Далее клетки осаждали центрифугированием (10 минут, 900 g, 4 °С) и дважды отмывали от среды культивирования охлажденным 0,85%-ным раствором хлорида натрия. После отмывки проводили лизис клеток. Осадок белого цвета суспендировали в 10 мл ледяной деионизованной воды, содержащей 0,2 mM фенолметилсульфонилфторида (PMSF) и инкубировали в холодильнике в течение 1 часа в емкости со льдом. Затем клетки и клеточный детрит осаждали центрифугированием (20 минут 1000 g при 4 °С). Процедуру лизиса проводили два раза. Супернатанты объединяли и центрифугировали при 12000 g 10 минут, осадок удаляли. Полученный супернатант, содержащий нуклеопротеин, замораживали либо лиофилизировали. Концентрация нуклеопротеина составляла около 1 мг/мл. Полученный препарат нуклеопротеина являлся электрофоретически однородным: в электрофорезе в ПААГ была обнаружена только одна полоса, соответствующая молекулярной массе 70 кДа.

ГОЛЬДАПЕЛЬ Э.Г. ¹, ДУГАРЖАПОВА З.Ф. ¹, ЧЕСНОКОВА М.В. ¹, МОРОЗОВА С.И. ²,
КУЗИН Д.Ю. ³, АЛЛЕНОВ А.В. ⁴

ЭПИЗООТОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ В 1919-2016 ГГ.

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

² Управление Роспотребнадзора по Приморскому краю,
Владивосток

³ Государственная ветеринарная инспекция Приморского края,
Владивосток

⁴ ФКУЗ Приморская противочумная станция Роспотребнадзора,
Уссурийск

Сибирская язва на восточных рубежах Российской Империи начала отмечаться во второй половине XIX столетия, и во многом была связана с геополитическим, экономическим положением страны. Развитие металлургии, горнодобывающей и других сырьевых промышленности было ограничено мощностью путей сообщения, что замедляло торговые обороты. Грандиозный проект по созданию железнодорожных магистралей, соединяющих Запад и Восток страны, стал еще более актуальным после Крымской войны 1853–1856 гг,

и не включал санитарные потери от сибирской язвы, хотя они оказались неизбежны.

Первые документальные сведения о сибирской язве в Приморье датируются 1894 г, когда от этой болезни пали 2204 лошади. Масштабы заболевания этой болезнью в Российской Империи были таковы, что в 16-летний период (1885–1900 гг.) от сибиреязвенной инфекции пало порядка 900 тыс. голов скота. При строительстве Уссурийской железной дороги во время Русско-японской войны в 1904–1905 гг. зарегистрирован падеж от сибирской

язвы 2000 лошадей и гибель 30 людей. Причиной возникновения заболевания посчитали завоз из сибирских регионов обсемененных шкур скота, которые использовались, как при сооружении временных жилищ, так и в изготовлении верхней одежды.

Официальная регистрация сибирской язвы в Приморском крае по данным Кадастра стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации от 2005 г. (СНП РФ) ведется с 1919 г., когда в с. Борисовка Уссурийского района отмечалась эпизоотия КРС, которая повторилась в 1936, 1938 и 1941 гг. В 1919–2005 гг. в крае учтены 68 СНП и 21 скотомогильник, 12 из которых имеют статус «сибирязвенный». Сибирская язва отмечалась в 19 из 34 административно-территориальных единиц. Наибольшее количество СНП приходится на семь районов: Спасский (11), Хорольский (8), Уссурийский (8), Черниговский (7), Михайловский (6), в Дальнереченском и Ханкайском – по пять. В остальных городских округах и районах отмечались от одного до трех пунктов.

Плотность СНП края составляет 0,41 на тыс. км². Самой высокой плотностью неблагополучных пунктов среди административных районов обладают Хорольский (4,0), Черниговский (3,68), Спасский (2,68), Михайловский (2,22); среди городских округов – Спасск-Дальний (25,0) и Лесозаводский (9,09).

Наиболее высокая эпизоотическая активность наблюдалась в г. Лесозаводске (1942–1961 гг.) и с. Воскресенка в Спасском районе (1933–1948 гг.) – 21 и 15 раз соответственно. Семикратно сибирская язва зарегистрировалась только в г. Спасске-Дальнем (1933–1938 гг.); пятикратно – в гг. Дальнереченск (1936–1939, 1947 гг.), Уссурийск (1936–1938, 1944, 1949 гг.) и с. Прохоры Спасского района (1934–1938 гг.); четырехкратно – в с. Духовское Спасского района (1933–1936 гг.), в с. Борисовка (1919, 1937, 1938, 1941 гг.) и Богатырка (1937–1940 гг.) Уссурийского района; трехкратно – в пяти, двукратно – в 12 и однократно – в 42 СНП.

Регистрация случаев сибирской язвы в селах Вознесенка (1934 г.) Хорольского и Степное (1973 г.) Уссурийского районов, не учтены Кадастром (2005 г.), несмотря на соответствующие записи эпизоотических журналов Приморской ветеринарной инспекции. Последние случаи сибирской язвы среди животных и людей регистрировались в 1979 г. в с. Покровка Октябрьского и с. Устиновка Кавалеровского районов.

Эпизоотические проявления сибирской язвы в Приморском крае с интервалом 1–3 года регистрировались в 22 (32 %), затем через 4–9 лет – в 4 (6 %), через 10–19 лет – в 3 (4 %), через 20 и более лет – в 2 (3 %). Наиболее продолжительные временные отрезки с повторным появлением сибирской язвы отмечены через 20 лет в с. Ляличи Михайловского района (1931 и 1951 гг.) и 27 лет – с. Чернышевка Анучинского района (1949 и 1976 гг.). Наибольшим индексом эпизоотичности по Таршису (ИЭТ) характеризуются Лесозаводский (0,22); Спасский (0,104) – и Уссурийский (0,092) административные территории, в которых этот показатель превышает краевой в 11,3; 5,2 и 4,6 раза соответственно.

Таким образом, наиболее неблагополучными по сибирской язве оказались населенные пункты, которые являлись основными логистическими узлами, центрами строительства и основного производства Приморского края, обеспечивавшие нужды Уссурийской железной дороги. Среди них такие города, как Лесозаводск, Уссурийск, Дальнереченск (Иман) и Спасск-Дальний; села – Воскресенка, Прохоры, Духовское Спасского района.

В настоящее время Приморский край относится к относительно благополучным по сибирской язве территориям Сибири и Дальнего Востока с умеренным риском заражения сибирской язвой. Несмотря на то, что в течение 38 лет наблюдается отсутствие регистрации случаев сибирской язвы в Приморском крае, и наибольший интервал между повторными случаями проявления составляет 27 лет, сохраняется вероятность возникновения данной нозологии.

ГОЛЬДАПЕЛЬ Э.Г., ТАКАЙШВИЛИ В.Е., ВИШНЯКОВ В.А., ИВАНОВА А.А.

ВЛИЯНИЕ ЭУФИЛЛИНА НА ГЕРМИНАЦИЮ И РОСТ СИБИРЯЗВЕННОГО МИКРОБА

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

Уникальность регуляторных механизмов сибирязвенного микроба позволяет ему оставаться долгие годы в споровой форме, а к активному росту вернуться за считанные минуты, вызывая патологические состояния животных и человека. Следует отметить и высокую устойчивость спор

к экстремальным воздействиям, равно как и то, с какой относительной легкостью погибают микробы в вегетативной форме. Пристальное внимание исследователей направлено на изучение свойств *Bacillus spp.*, связанных с образованием споровой формы, ее герминации (лат. *germinatio* – прорас-

тание) и роста. Почти полторы сотни лет прошло с момента опубликования Робертом Кохом статьи, в которой изложена бактериальная теория этиологии сибирской язвы и впервые сформулирована доказанная в последующем гипотеза о существовании споровой формы микроорганизма, которая сохраняет «токсичность почв» долгие годы (Koch R., 1876). С тех пор предложено множество методов исследования герминативных свойств спорообразующих бактерий, однако остается ряд вопросов, касающихся механизмов споруляции и герминации, а также влияющих на них факторов.

Для *Bacillus anthracis* установлено наличие рецепторов герминации (GR), участвующих в жизненном цикле бактерии. Химические и физические факторы способны вызывать GR-опосредованную герминацию (нутриенты: аминокислоты, сахара и др.; давление порядка 100–350 МПа) либо воздействовать по GR-независимому механизму (хелат иона кальция и дипиколиновой кислоты, давление порядка 500–1000 МПа).

В работе L. Sinai с соавт. (2015) показаны основные метаболические пути герминации, созревания и роста *B. subtilis*, включая первые два часа с момента помещения спор в питательную среду. На этапе перехода споры в иное стационарное состояние среди наиболее ранних (первые 60 минут) процессов, таких как гликолиз, утилизация малата, запуск транскрипционно-трансляционного аппарата, авторами также отмечена значимость метаболического пути пуринов, одним из которых является эуфиллин. Эуфиллин, или аминофиллин (международное непатентованное название) – лекарственный препарат, который относится к фармакологической группе веществ «аденозинергические средства», представляет собой смесь, состоящую из 80 % теофиллина (1,3-диметил-7Н-пурин-2,6-дион) и 20 % этилендиамина (1,2-этилендиамин).

Цель исследования – оценить влияние эуфиллина на герминацию и рост *B. anthracis*.

В работе использован вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1, относящийся к III группе патогенности (приложение 3 к СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»). Исследование проводилось с соблюдением требований биологической безопасности в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)».

Споры получали путем культивирования микроба на агаре Хоттингера (рН 7,2) при 37 °С в течение 72 ч с последующим инкубированием при температуре 4 °С на протяжении 14–30 суток. Споровая форма регистрировалась микроскопически при исследовании более 30 полей зрения в мазках по Цилю-Нильсену, Граму и фотодокументировалась. Взвесь спор готовилась в физиологическом растворе методом серийных разведений по стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. Суспензия

спор в концентрации 10⁴ микробных клеток в 1 мл объемом 0,1 мл заседалась на твердые питательные среды с эуфиллином в дозе 2,4 мг/мл среды (группа 1: агар Хоттингера рН 7,9 в количестве 16 чашек Петри) и без эуфиллина (группа 2: агар Хоттингера рН 7,2 – 16 чашек). При добавлении эуфиллина рН среды возрастает с 7,2 до 7,9, однако это не подавляет рост бактерий (Маринин Л.И. и др., 2009). При каждой из четырех серий опытов ставились отрицательные контроли эуфиллина и физиологического раствора, а также положительный контроль *B. anthracis* СТИ-1 (посев петлей методом штриха). Инкубирование опытных групп проводилось при 37 °С и атмосферном давлении. Подсчет и измерение колониеобразующих единиц (КОЕ) осуществлялись спустя 18 ч после посева. Колонии группировались в соответствии с их диаметром: от не более 1 до 6 мм с шагом 1 мм.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программ «Медико-биологическая статистика» (Primer of Biostatistics, 4th Edition, S.A.Glantz, McGraw-Hill). Определялись нормальность и однородность распределения полученных данных. В качестве статистических критериев применялись t-критерий Стьюдента (с поправкой Бонферрони), а также однофакторный дисперсионный анализ. Значимость различий принималась при $p < 0,05$.

Каждая серия опытов состояла из двух групп по четыре чашки с эуфиллином и без него. Для размеров КОЕ во всех сериях группы с эуфиллином характерны нормальное распределение и однородность дисперсий ($F = 0,21$; $p = 0,89$). Объем выборки для всех серий с эуфиллином составил 222 КОЕ (в пределах серий от 40 до 72). Размеры колоний варьировали от не более 1 до 3 мм. Мода и медиана принимали значения интервала 0–1: Ме [0,75–0,88], Мо [0,67–0,8], σ [0,47–0,49]. Средний размер КОЕ в этой группе варьировал от $0,83 \pm 0,14$ до $0,93 \pm 0,12$ мм.

В группе без добавления эуфиллина по совокупности серий опытов объем выборки составил 584 КОЕ (в пределах серий от 135 до 160). Для данной группы так же, как и для первой, характерны нормальное распределение и однородность дисперсий во всех сериях ($F = 0,71$; $p = 0,51$). Размеры колоний варьировали от не более 1 до 6 мм. Мода и медиана принимали значения интервала 3–4: Ме [3,05–3,36], Мо [3,18–3,46], σ [0,85–0,99]. Средний размер КОЕ в группе во всех сериях составил от $3,0 \pm 0,15$ до $3,3 \pm 0,15$ мм.

Сравнительный анализ размеров КОЕ на чашках с эуфиллином и без него в каждой серии опытов (N_i) показал достоверное различие дисперсий: N_1 ($F = 5,62$; $p = 0,02$); N_2 ($F = 6,07$; $p = 0,02$); N_3 ($F = 6,17$; $p = 0,02$); N_4 ($F = 4,80$; $p = 0,03$). Более того, дисперсии в группе без эуфиллина значимо больше таковых в группе с эуфиллином. Количество КОЕ на чашках с эуфиллином в каждой серии

опыта значительно меньше, чем на чашках без эуфиллина (коэффициент Стьюдента с поправкой Бонферрони $p < 0,05$: $t_1 = 4,7$; $t_2 = 4,8$; $t_3 = 4,9$; $t_4 = 5,1$ соответственно).

Интересным оказалось и то, что культура *B. anthracis* СТИ-1 при дальнейшем инкубировании на чашках с эуфиллином при 37 °С на протяжении 8–10 дней не проявляла признаков споруляции, в то время как все КОЕ на чашках без эуфиллина спорулировали к концу пятых суток.

Таким образом, установлено, что эуфиллин оказывает ингибирующее действие на герминацию и рост сибиреязвенного микроба спустя 18 ч инкубации в каждой из четырех по совокупности серий, при этом средний размер КОЕ в присутствии этого препарата более чем в три раза меньше, чем без него. Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшего изучения споруляции и герминации микроорганизмов рода *Bacillus* *ex vivo* и *in vivo*.

ГРОМОВА А.В. ¹, НОЗДРИН Г.А. ²

КОРРЕГИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ИММУННЫЙ СТАТУС ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск

Одним из требований к пероральным микробиологическим препаратам, обладающим пробиотическими свойствами, является способность улучшать состояние иммунной системы за счет стимуляции неспецифической и специфической резистентности организма (Tuomola E. et al., 2001; FAO/WHO, 2001, 2002; Tomasik P.J., 2003; Avanee Choudhari et al., 2008). Среди пробиотических культур, прошедших доклинические исследования, выделяются бактерии рода *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bacillus*. Для более детального исследования иммунокорректирующего действия препаратов на основе молочнокислых в сочетании с пропионовокислыми бактериями или спорообразующих бактерий, важно экспериментально установить адекватные дозы применения и взаимозаменяемость пробиотиков.

Целью работы явилось определение дозозависимого эффекта назначения пробиотика, в составе которого *Lactobacillus plantarum* штамм ВКПМ В-2347 и *Propionibacterium freudenreichii* штамм ВКПМ В-6561, на показатели неспецифического иммунитета кроликов, а также эквивалентного – при применении препарата, содержащего *Bacillus amyloliquefaciens* штамм ВКПМ В-10643 в сравнении с молочно- и пропионовокислыми бактериями, на уровень иммуноглобулинов крови шиншиллы.

Экспериментальными моделями в опытах служили 12 кроликов породы Советская шиншилла и 15 шиншиллы стандартной окраски. Кроликам назначали суспензию с *L. plantarum* и *Pr. freudenreichii* I-й опытной группы в дозе 0,25 мл/кг, а II-й – 0,5 мл/кг в питьевую воду в течение 30 суток; шиншиллам I-й опытной группы применяли с питьевой водой бактерии *L. plantarum* и *Pr. freudenreichii* в течение

7 суток подряд 1 раз в день в дозе 0,25 мл/кг с 7-суточным перерывом, повторяя трижды циклическое введение, II-й – *B. amyloliquefaciens* в дозе 1 мкл/кг по аналогичной схеме; контрольным группам животных препараты не вводили.

Забор крови для исследований у кроликов осуществляли из ушной вены на 1-е, 45-е, 90-е сутки опыта, у шиншиллы – из яремной вены на 1-е и 35-е сутки. Для определения состояния неспецифической резистентности крови кроликов исследовали лизоцимную (ЛАСК) и бактерицидную (БАСК) активность сыворотки крови, фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) крови по общепринятым методикам, уровень иммуноглобулинов (Ig) А, М и G в сыворотке крови шиншиллы устанавливали с помощью биохимического анализатора.

В процессе эксперимента у подопытных кроликов контрольной группы результаты исследований ЛАСК показали уменьшение на 90-е сутки на 3 %, тогда как показатели фагоцитарной и бактерицидной активности увеличивались на 45-е и 90-е сутки на 0,25–1,88 %.

У кроликов I-й и II-й опытных групп при назначении суспензии с *L. plantarum* и *Pr. freudenreichii* наблюдали увеличение ЛАСК и ФАН в сыворотке крови только на 90-е сутки на 3,7 % ($p \leq 0,05$) и 2,3 % ($p \leq 0,05$), 5,5 % ($p \leq 0,05$) и 2,9 % ($p \leq 0,05$) соответственно по сравнению с показателями в контрольной группе.

В ходе исследований установлено, что БАСК у кроликов в I-й и II-й опытных группах на 45-е и 90-е сутки опыта было выше по сравнению с аналогами из контрольной группы на 1,4 % ($p \leq 0,05$) и 2,3 % ($p \leq 0,05$), 0,8 % и 2,4 % ($p \leq 0,05$) соответственно. Увеличение БАСК при пероральном назначении

суспензии с молочно-, пропионовокислыми бактериями коррелировало с повышением ЛАСК в сыворотке крови.

Повышение активности мононуклеарной фагоцитарной системы у кроликов за счет увеличения лизоцимной, бактерицидной и фагоцитарной активности в крови при использовании препарата на основе *L. plantarum* и *Pr. freudenreichii* объясняется иммуностимулирующей макроорганизма посредством взаимодействия с иммунокомпетентными клетками слизистой кишечника компонентами клеточных стенок лакто- и пропионовокислых бактерий, таких как пептидогликаны и тейховые кислоты. Сопоставляя статистические данные показателей неспецифической резистентности кроликов при воздействии разных доз микробиологического препарата, наиболее выраженный эффект регистрировали при использовании пробиотика в дозе 0,5 мл/кг.

Оценку гуморального статуса иммунитета шиншиллы при применении пробиотических препаратов, содержащих *L. plantarum* с *Pr. freudenreichii* или *B. amyloliquefaciens*, позволяет сделать исследование содержания иммуноглобулинов классов G, M и A в сыворотке крови.

Согласно результатам эксперимента статистически значимые и достоверные изменения в иммунологических показателях сыворотки крови шиншиллы прослеживали в уровне сывороточного IgA, также наблюдали тенденцию к повышению уровня IgG. Так, значение IgA и IgG у животных при пероральном введении шиншиллам молочно-, пропионовокислых бактерий увеличивалось на 35-е сутки на 25,4 % ($p \leq 0,01$) и 10,9 % соответственно,

тогда как при применении пробиотика на основе *B. amyloliquefaciens* эти показатели увеличились на 25,2 % ($p \leq 0,001$) и 15,4 %, соответственно, по сравнению с аналогами из контроля. Колебания содержания в сыворотке крови IgM по группам шиншиллы было незначительным и недостоверным.

Сравнивая влияние на иммуноглобулины сыворотки крови изучаемых пробиотиков, в состав которых входят различные по природе и таксономическим параметрам микроорганизмы, отметим, что пероральное введение шиншиллам спорообразующих бактерий увеличивало значения IgG на 5,1 % по сравнению с применением молочно-, пропионовокислых бактерий животных.

Увеличение иммуноглобулинов A и G в сыворотке крови шиншиллы под влиянием пробиотиков говорит об интенсивном синтезе плазматическими клетками слизистой кишечника IgA и IgG, что, в свою очередь, объясняется обеспечением пробиотическими штаммами напряженности местного иммунитета, контакта с макрофагами и лимфоцитами лимфоидной ткани в области пейеровых бляшек, следствием взаимодействия которых и является выработка иммуноглобулинов (Похиленко В.Д. и др., 2007; Шульпекова Ю.О., 2012).

Таким образом, с увеличением дозы препарата, содержащего *L. plantarum* и *Pr. freudenreichii*, происходит повышение активности мононуклеарной фагоцитарной системы у экспериментальных животных, а назначение различных по составу пробиотиков, использованных в эксперименте, сопровождалось стимулирующим эквивалентным действием на показатели гуморального иммунитета.

ДЕРЯБИН А.Н.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЫ АРХАНГЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ

Управление Роспотребнадзора по Архангельской области,
Архангельск

Почва является одной из главных составляющих природной среды, которая благодаря своим свойствам обеспечивает человеку здоровую среду обитания. Нарушение этих свойств, обусловленное загрязнением, может оказать неблагоприятное влияние на здоровье людей, вызвать распространение инфекционных и паразитарных заболеваний, ухудшение качества продуктов питания, воды и атмосферного воздуха (Гарицкая М.Ю., 2016).

Архангельская область относится к территориям, на которых отмечается значительное загрязнение почвы микроорганизмами. На территории Архангельской области за 2014–2016 гг. удельный вес проб почвы селитебной зоны, не отвечающих

гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, составил 22,9 %, что выше среднероссийского показателя в 3,2 раза (7,1 %), по паразитологическим показателям – 2,4 %, что в 2 раза превышает средний показатель по России (1,2 %) (Госдоклад, 2017). В этой связи исследование биологического загрязнения почвы является актуальным.

Цель исследования – выполнить сравнительную оценку степени контаминации почвы биологическими агентами на территории 6 городов и 19 районов Архангельской области.

Оценка биологического загрязнения и эпидемиологической опасности почвы проведена на основе базы данных ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиоло-

гии в Архангельской области» за 2007–2016 гг. по трем группам показателей: санитарно-бактериологическим (60,0 %), санитарно-паразитологическим (20,0 %) и санитарно-энтомологическим (20,0 %).

Для описания содержания в почве санитарно-показательных организмов группы кишечной палочки (индекса БГКП) и фекальных стрептококков (индекса энтерококков) использованы медиана (Me) и 90-й процентиль (P90). Оценка загрязнения почвы яйцами гельминтов и преимагинальными стадиями мух проведена с использованием абсолютных значений и относительных частот.

Для анализа общего загрязнения почвы в сумме по всем биологическим агентам использована балльная система оценки. Баллы присваивались с учетом категории загрязнения почвы: «чистая» – 1 балл; «умеренно опасная» – 2 балла; «опасная» – 3 балла; «чрезвычайно опасная» – 4 балла. Общее микробное загрязнение почвы оценивалось по суммарному количеству баллов: 4–5 баллов – почва «чистая» или загрязнена незначительно, 6–7 баллов – высокое загрязнение почвы и 8–9 баллов – наиболее высокое загрязнение почвы. Статистический анализ проведен в программе SPSS 17.0 для Windows.

За 2007–2016 гг. в городах и районах Архангельской области в рамках мониторинга проведено 6697 исследований почвы на индекс БГКП, 6699 исследований почвы – на индекс энтерококков, 6698 исследований почвы – на санитарно-паразитологические показатели.

Выполнена оценка степени эпидемической опасности почвы по индексам БГКП и энтерококков на уровне медианных значений и P90 согласно СанПиН 2.1.7.1287-03. На уровне медианы почва по индексам БГКП и энтерококков в исследуемых мониторинговых точках в целом по Архангельской области оценивается как чистая (индексы БГКП и энтерококков менее или равны 10).

В городах Котласе, Новодвинске, в Вельском и Холмогорском районах Архангельской области на уровне медианы наблюдается умеренно опасное загрязнение почвы по индексу БГКП (индекс БГКП от 10–100), на остальных территориях области почва оценивается как чистая. На уровне P90 чрезвычайно опасное загрязнение почвы по индексу БГКП (индекс БГКП более 1000) установлено в Котласе. Опасная степень контаминации почвы (индекс БГКП 100–1000) обнаружена в городах Архангельске, Новодвинске и шести районах Архангельской области (Холмогорском, Приморском, Котласском, Верхнетоемском, Устьянском и Онежском). К категории умеренно опасной по загрязнению отнесена почва в пяти районах Архангельской области (Виноградовском, Коношском, Красноборском, Няндо-мском, Плесецком районах), городах Северодвинске и Мирном. На других территориях области почва по индексу БГКП характеризуется как чистая.

По индексу энтерококков на уровне медианных значений почва в районах и городах Архангельской

области отнесена к категории «чистая». На уровне P90 умеренно опасное загрязнение почвы (индекс энтерококков 10–100) установлено в трех районах Архангельской области (Вельском, Котласском и Холмогорском районах), а также в городах Архангельске, Новодвинске и Котласе. На других территориях области почва по индексу энтерококков характеризуется как чистая.

В городах Архангельске, Новодвинске, а также в семи районах Архангельской области (Виноградовском, Каргопольском, Мезенском, Пинежском, Приморском, Холмогорском и Шенкурском районах), почва по содержанию яиц и личинок аскарид относится к категории умеренно опасной (до 10). На других территориях области почва по загрязнению яйцами и личинками аскарид оценивается как чистая.

По загрязнению почвы яйцами и личинками токсокар умеренно опасная контаминация установлена в шести районах Архангельской области (Вельском, Виноградовском, Плесецком, Приморском, Холмогорском и Шенкурском районах), городах Архангельске, Северодвинске и Новодвинске. В пробах почвы на других территориях области яиц и личинок токсокар не выявлено.

Яйца и личинки власоглава обнаружены в двух пробах в Архангельске, цисты кишечных простейших по одной пробе – в городах Архангельске и Корьяжме, яйца и личинки тениид в одной пробе – в Пинежском районе. Яйца и личинки эхинококка не выявлены в почве ни на одной административной территории Архангельской области. По одной нестандартной пробе патогенных энтеробактерий было обнаружено в Вельском, Каргопольском, Котласском, Ленском, Пинежском, Приморском районах, по две пробы – в г. Новодвинске и Северодвинске, три пробы – в Няндо-мском районе, четыре пробы – в Архангельске и 18 проб – в Коношском районе. Преимагинальные стадии мух обнаружены в одной пробе почвы в городе Котласе.

Оценка общего загрязнения почвы в сумме по всем биологическим агентам показала, что наиболее высокое загрязнение почвы по содержанию биологических агентов (8–9 баллов) установлено в городах Котласе, Архангельске и Новодвинске, а также на территории Приморского и Холмогорского районов. Высокая степень контаминации почвы биологическими агентами (6–7 баллов) выявлена на территории Плесецкого, Онежского, Устьянского, Верхнетоемского, Виноградовского, Шенкурского, Котласского районов и города Северодвинска. Почва на остальных территориях области оценивается как чистая или загрязнена незначительно (4–5 баллов).

Таким образом, наиболее высокое общее загрязнение почвы по содержанию биологических агентов установлено в городах Котласе, Архангельске и Новодвинске, а также Приморском и Холмогорском районах. Самый низкий уровень контаминации почвы – в городе Корьяжме, Вилегодском, Ленском и Лешуконском районах.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ УНИВЕРСИАДЫ-2019Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю,
Красноярск

Проведение санитарно-противоэпидемических и профилактических мероприятий, направленных на предупреждение завоза и распространения опасных инфекционных болезней, а также природно-очаговых и зоонозных инфекционных болезней на территории Красноярского края реализуется в рамках ведомственной целевой программы «Санитарная охрана территории Красноярского края».

В Красноярском крае действует Комплексный план мероприятий по санитарной охране территории Красноярского края от завоза и распространения опасных инфекционных болезней на 2014–2019 гг. (далее – Комплексный план), позволяющий организовать межведомственное взаимодействие в оперативном порядке при чрезвычайных ситуациях между Управлением Роспотребнадзора по Красноярскому краю, ООО «Аэропорт Емельяново», Управлением Россельхознадзора по Красноярскому краю, Службой по ветеринарному надзору в Красноярском крае, министерством здравоохранения, министерством транспорта Красноярского края и другими министерствами и ведомствами края.

Управлением Роспотребнадзора по Красноярскому краю проводится ежегодная корректировка приложений Комплексного плана, в корректировке участвуют ответственные исполнители из министерств и ведомств края с целью актуализации данных.

Проведение комплекса противоэпидемических мероприятий при регистрации случая инфекционного заболевания на борту воздушного судна или в здании аэровокзала регламентировано Планом действий по предупреждению возникновения и распространения особо опасных инфекций в пункте пропуска на Российском участке внешней границы Евразийского экономического союза в воздушном пункте пропуска Красноярск (Емельяново), что позволяет своевременно организовать и обеспечить проведение комплекса противоэпидемических мероприятий при выявлении случаев инфекционных болезней на борту воздушного судна или в здании аэровокзала с участием специалистов службы санитарно-карантинного контроля Управления Роспотребнадзора по Красноярскому краю, медицинской службы ООО «Аэропорт Емельяново» и при необходимости краевых структур.

Осуществление санитарно-карантинного контроля на территории Красноярского края проводится в воздушном пункте пропуска Красноярск (Емельяново) и морском пункте пропуска

г. Дудинка с проведением термометрии 100 % пассажиров и членов экипажа, прибывающих в воздушный и морской пункты пропуска, с использованием современных стационарного и переносного тепловизоров. Ежегодно в воздушном пункте пропуска аэропорт «Красноярск (Емельяново)» специалистами службы санитарно-карантинного контроля на международных рейсах выявляется от 9 до 19 пассажиров с признаками инфекционных заболеваний. За 8 месяцев 2017 г. в связи с неблагоприятным по энтеровирусной инфекции в Турции, Вьетнаме и Китае выявлен 21 пассажир с признаками инфекционного заболевания.

В связи с неблагоприятным по лихорадке Зика в странах Южной и Центральной Америки и Карибского бассейна в пункте пропуска «Красноярск (Емельяново)» с 2016 г. проводится мониторинг в отношении пассажиров, прибывших из этих стран.

Ежегодно Управлением Роспотребнадзора по Красноярскому краю совместно с министерством здравоохранения Красноярского края с целью предупреждения завоза инфекционных заболеваний на территорию края проводится работа по организации Хаджа в Королевство Саудовская Аравия с территории Красноярского края и обратно.

С целью оценки готовности контрольно-надзорных органов и наземных служб аэропорта к работе в очагах особо опасных инфекций Управлением Роспотребнадзора по Красноярскому краю ежегодно проводятся специальные тренировочные учения по организации и проведению комплекса противоэпидемических мероприятий по ликвидации инфекционного очага в аэропорту «Емельяново».

В ходе тактико-специальных учений отрабатываются вопросы организационных и противоэпидемических мероприятий при ликвидации чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера на борту воздушного судна в аэропорту «Красноярск (Емельяново)» при взаимодействии с государственными контрольными органами в ВПП «Красноярск (Емельяново)» и наземными службами аэропорта «Красноярск (Емельяново)».

По итогам проведения тактико-специальных учений дана удовлетворительная оценка готовности специалистов санитарно-карантинного пункта, медицинских служб аэропорта Красноярск (Емельяново), ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», государственных контролируемых органов и всех наземных служб аэропорта.

Ежегодно на территории Красноярского края проводятся командно-штабные учения для специализированных формирований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае» с отработкой действий в очагах инфекционных заболеваний, представляющих угрозу возникновения чрезвычайной ситуации.

В Красноярском крае Распоряжением Правительства от 12.02.2009 № 72-п «О создании

санитарно-противоэпидемической комиссии при Правительстве Красноярского края» создана и работает санитарно-противоэпидемическая комиссия по вопросам предупреждения завоза и готовности территориальных органов и организаций к работе в очаге опасной инфекционной болезни, что позволяет скоординировать межведомственное взаимодействие при чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера.

ДМИТРИУКОВА М.Ю.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМА ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА 16 ТИПА И РИСК РАЗВИТИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва

Рак шейки матки (РШМ) – основная причина смерти женщин от онкологических заболеваний в возрасте от 15 до 45 лет. Основной причиной развития РШМ и предшествующей ему дисплазии является вирус папилломы человека (ВПЧ) высокоонкогенного типа, при этом наиболее часто выявляются 16 и 18 типы. Особенностью течения ВПЧ инфекции является тот факт, что не более 20 % инфицированных лиц в дальнейшем имеют клинически проявления. Поэтому остается вопрос, как на ранних этапах ВПЧ инфекции выявлять лица с повышенным риском развития РШМ.

Одной из попыток раннего выявления лиц с риском развития дисплазии является поиск мутаций в геноме ВПЧ. Геном ВПЧ представлен двуцепочечной молекулой ДНК, с крайне низкой изменчивостью. Несмотря на это, в пределах ВПЧ 16 типа было выделено 4 линии, с различиями в пределах 1–10 %: А (Европейская), В (Африканская-1), С (Африканская-2) и D (Американская), по несколько сублиний внутри каждой линии. Названия были даны по группам населения, среди которых данная линия преобладает. *In vitro* исследования показали, что отдельные участки генома ВПЧ – LCR (длинный контролируемый регион) и E6 – некоторых линий обладают большей онкогенностью: они более эффективно деградируют белок-супрессор злокачественных опухолей P53 и препятствуют дифференциации эпителиальных клеток. В частности, было показано, что линия D чаще ассоциирована с развитием РШМ и чаще встречается в аденокарциномах (в 3–45 раз), чем европейские линии А. Так же, возможны различия по онкогенности внутри линии. Например, А4 линия в 10 раз чаще ассоциирована с развитием тяжелой дисплазии, по сравнению с линией А1. Кроме того, есть данные, что мутация T350G (L83V), вне

зависимости от варианта ВПЧ, ассоциирована с более высоким риском развития дисплазии.

Целью работы явилась оценка наличия взаимосвязи между изменчивостью ВПЧ 16 типа и риском развития дисплазии и РШМ.

Для достижения цели были изучены образцы соскобов цервикального канала, содержащие ДНК ВПЧ 16 типа. Образцы были получены от пациентов Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина, а также в ходе скрининговых исследований. Фрагмент генома ВПЧ длиной 1500 нуклеотидов амплифицировали двумя перекрывающимися фрагментами по 750 нуклеотидов (фрагмент LCR – от 7127 до 87 нуклеотида и фрагмент E6/E7 – от 87 до 743 нуклеотида). Секвенирование указанных фрагментов проводили по методу Сэнгера.

По цитологическому диагнозу образцы распределились следующим образом: 4 образца без цитологических отклонений, 31 образец – с диагнозом средняя/тяжелая дисплазия (HSIL) и рак. Все образцы ВПЧ 16 типа относились к линии А (Европейской), вне зависимости от цитологического диагноза.

Изменчивость относительно референсной последовательности (Myers et al., 1995) составила 0,5 %, что свидетельствует о том, что все исследованные образцы находятся внутри одной сублинии ВПЧ. При этом, в российской популяции преобладали образцы с заменами в положении T350G, G7521A и G7193T.

Кроме того, замены в положениях C24G, T109C и T7495C обнаруживались только в образцах с цитологическим диагнозом HSIL. Замена T350G, ассоциируемая с повышенным риском развития РШМ, встречалась у 20 из 29 образцов с диагнозом HSIL и у 2 из 4 образцов без отклонений в цитологическом препарате.

Полученные данные свидетельствуют о возможном наличии взаимосвязи между внутренней

изменчивостью вируса и прогрессией заболевания. Однако, для более убедительных выводов необходимо провести исследование большего количества образцов.

Также показано некоторое отличие геномной последовательности вирусов папилломы человека, полученных на территории РФ от популяций, исследованных на территории Западного мира.

ДУРАКОВА О.С., ГРОМОВА О.В., ЛИВАНОВА Л.Ф., АВДЕЕВА Н.Г., ГАЕВА А.В., КИРЕЕВ М.Н.

СКРИНИНГ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ПО ПОКАЗАТЕЛЮ АКТИВНОСТИ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА МЕТОДАМИ *IN VITRO*

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

В связи с эпидемической ситуацией по холере в мире необходима специфическая профилактика этого заболевания. Холерная химическая вакцина, разработанная в РосНИПЧИ «Микроб» и лицензированная на территории России, состоит из холерогена-анатоксина и О-антигенов холерного вибриона сероваров Инаба и Огава. Качество полуфабриката холерогена-анатоксина определяется специфической активностью холерного токсина (ХТ), где в качестве контроля используется препарат очищенного ХТ. В настоящее время для получения ХТ используют производственный штамм *Vibrio cholerae cholerae 569B* серовара Инаба. Для получения большего количества ХТ в работе использовались штаммы-продуценты этого антигена: *V. cholerae cholerae KM76* серовара Инаба, *V. cholerae cholerae KM68* серовара Огава, *V. cholerae eltor KM234*, созданные в отделе микробиологии. Для сравнения мы взяли штамм *Vibrio cholerae cholerae 569B*.

Был проведен скрининг штаммов-продуцентов по показателю активности холерного токсина методами *in vitro*.

Методы: в работе использовались методы *in vitro* для определения активности холерного токсина – иммуноферментный анализ с использованием GM1-моносиалоганглиозидов (GM1-ИФА), радиальная диффузная преципитация (РДП) и реакция пассивного иммунного гемолиза (РПИГ). Концентрацию биомассы в пробах определяли турбидиметрически на спектрофотометре Biowave.

Для оптимального выхода препарата ХТ был проведен подбор питательной среды, при использовании которой выявляется наиболее высокий уровень его биосинтеза. Были использованы бульон АК1, жидкая питательная среда на основе ферментативного гидролизата фибрина, в каче-

стве среды сравнения использовали казеиновый бульон pH 7,6. Эффективность жидких питательных сред определяли в условиях малообъемного культивирования на шейкере-инкубаторе. Иммунохимическими методами (ИФА, РДП и РПИГ) было выявлено, что штаммы *V. cholerae KM76* и *KM68* на всех изученных средах дают большой выход ХТ. Но наибольший выход антигена был на жидкой питательной среде на основе ферментативного гидролизата фибрина. Штамм *V. cholerae 569B* одинаково вырос на обеих средах. Для *V. cholerae KM234* наилучшей была фибриновая среда.

Проведенное исследование показало, что оптимальной по уровню накопления биомассы и продукции ХТ является питательная среда на основе ферментативного гидролизата фибрина.

Задача следующего этапа работы состояла в выявлении оптимальных условий для синтеза холерного токсина при культивировании штаммов-продуцентов на фибриновой среде в лабораторном биореакторе с рабочим объемом 1 л, методом глубинного культивирования с подпиткой источником углеводного питания и корректировкой pH при закислении культуральной жидкости. Были проведены три цикла культивирования каждого из штаммов холерных вибрионов.

В результате, наибольшая концентрация биомассы и продукция холерного токсина была у штаммов, по сравнению с *V. cholerae 569B* (РДП – 1/32; ИФА – 1/32; РПИГ – 1/80), *V. cholerae KM76* (РДП – 1/32; РПИГ – 1/160; ИФА – 1/400) и *KM68* (РДП – 1/2; РПИГ – 1/1280; ИФА – 1600).

Таким образом, нами проведена работа по испытанию в условиях реакторного культивирования штаммов-продуцентов холерного токсина. Для дальнейшего исследования было отобрано 2 штамма, которые дают наибольший выход антигена.

АНАЛИЗ БЕЛКОВ НАРУЖНЫХ МЕМБРАН ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ O1 И O139 СЕРОГРУПП С ПОМОЩЬЮ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Моноклональные антитела (МКА) – тонкий инструмент для углубленного изучения антигенных детерминант белковой, полисахаридной, нуклеопротеиновой природы поверхностных структур клеток. Иммуноблоттинг (син. вестернблоттинг) – высокочувствительный метод выявления белков, основанный на сочетании электрофореза и иммуноферментного анализа. Антигены возбудителя разделяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, затем переносят их из геля на нитроцеллюлозную мембрану и проявляют с помощью специфических антител в ИФА. Цель работы – анализ с помощью МКА и метода иммуноблоттинга антигенных детерминант белковой природы в цельноклеточных лизатах и препаратах суммарных фракций белков наружных мембран *Vibrio cholerae* O1 и O139.

Цельноклеточные лизаты штаммов холерных вибрионов готовили из взвесей 10^9 м.к. с добавлением лизис-буфера 1:1 и последующим прогреванием в течение 5 мин при 100 °С. Фракции белков наружных мембран (БНМ) были выделены из бактериальной массы штаммов холерных вибрионов по методу A. Lohia с соавт. и S.R. Chakrabarti с соавт. Для выделения фракций БНМ использовали штаммы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, у которых ранее тестировали в ПЦР с помощью специфических праймеров гены токсинообразования (*ctx*) и токсинорегулируемых пилей (*tcpA*), белков наружных мембран *ompT*, *ompU* и *ompW*, а также *toxR*. Электрофорез бактериальных лизатов и общих мембранных фракций проводили по методу U.K. Laemmli в пластинах 12,5 % полиакриламидного геля размером 70×100×1 мм в денатурирующих условиях на приборе Tetra Mini Protean (Bio-Rad) Использовали белковые маркеры молекулярных весов от 10 до 250 кДа Precision Plus Stead (BioRad). Полусухой перенос антигенных фракций из геля на нитроцеллюлозную мембрану (НЦМ) (Bio-Rad) проводили на приборе TransBlot Turbo (Bio-Rad). Для окраски белков на мембране использовали краситель Ponceau S (Reanal, Budapest). Постановку иммуноблоттинга осуществляли по методу H. Towbin с соавт., обрабатывая мембрану МКА, затем антивидовым конъюгатом. Специфические полосы и зоны проявляли диаминобензидином. Вычисляли приблизительную молекулярную массу (м.м.) белков специфических полос, сравнивая их положение на мембране относительно белковых маркеров.

Анализ исследуемых образцов проводили с помощью МКА, синтезируемых гибридомами-продуцентами H2F6 и A5D8, полученными в лаборатории и депонированными в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур ФГУН ГНЦ ПМБ (г. Оболensk). В результате окрашивания НЦМ красителем Ponceau S обнаружены белковые полосы различной интенсивности в диапазоне м.м. 10–150 кДа в цельноклеточных лизатах и 15–100 кДа в общих мембранных фракциях. При обработке нитроцеллюлозной мембраны моноклональными антителами A5D8 на блотограмме цельноклеточных лизатов обнаружены специфические полосы в районе м.м. 38–42 кДа у всех взятых в исследование штаммов холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп. Это означает, что МКА A5D8 узнавали соответствующую им детерминанту, общую для *V. cholerae* O1, O139 в белках или их фрагментах с указанной м.м. В то же время МКА гибридомы H2F6 отличались уникальной особенностью, т. к. выявляли «свою» детерминанту в структуре белков также с м.м. 38–42 кДа, но только у штаммов с генотипом *tcpA+*, независимо от наличия гена *ctx*. Аналогичная антигенная детерминанта отсутствует у холерных вибрионов O1, O139 серогрупп *tcpA-*. Это различие позволяет использовать МКА H2F6 в качестве диагностического реагента для обнаружения штаммов холерных вибрионов с генотипом *tcpA+*. В случае постановки иммуноблоттинга с фракциями БНМ МКА A5D8 специфически взаимодействовали с комплементарной им детерминантой в составе белков с диапазоном м.м. от 15 до 100 кДа. Данный факт обусловлен, предположительно, наличием специфического эпитопа в структуре разных белков мембранных фракций либо их фрагментов полипептидной природы. Обработка мембранных фракций МКА H2F6 показала наличие единственной полосы в области м.м. 38–42 кДа у холерных вибрионов с генотипом *ompT ompU ompW toxR ctx tcpA*, и отсутствие аналогичного эпитопа у штаммов, делетированных по генам *ctx*, *tcpA* и *ompT* ($\Delta ompT ompU ompW toxR \Delta ctx \Delta tcpA$).

Таким образом, анализ антигенных фракций холерных вибрионов методом иммуноблоттинга с помощью МКА H2F6 показал наличие эпитопа белковой природы с м.м. 38–42 кДа у холерных вибрионов с генотипом *ompT+ tcpA+*, независимо от наличия гена *ctx*. По данным литературы

молекулярная масса субъединицы токсин-ко-регулируемых пилей адгезии в электрофорезе составляет 20,5 кДа, молекулярная масса белка наружной мембраны OmpT – 40 кДа, в связи с чем

мы полагаем, что МКА H2F6 выявляет в препаратах фракций БНМ эпитоп белка-порина OmpT у штаммов *V. cholerae* O1, O139 с генотипом *ompT ompU ompW toxR ctx tcpA*.

ЕРМОЛЕНКО К.Д., ЗАКРЕВСКАЯ А., КУЛЯШОВА Л., РОЩИНА Н.

ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭНТЕРОЦИНОВ

ФБУН НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
Санкт-Петербург

Супернатант и пептидный экстракт из пробиотической культуры *Enterococcus faecium* L3 ранее демонстрировали противовирусную активность против вируса простого герпеса (Ермоленко К.Д. и др., 2009). Недавние исследования размера генома (Карасева А. и др., 2016) *E. faecium* L3 показали, что он содержит 2717 генов, в частности, кодирующие энтероцины А и В, и двухкомпонентный энтероцин Х (Х-α и Х-β). Эти бактериоцины в отличие от CRL35 и мундцитина в предыдущих исследованиях демонстрировали только антибактериальную активность. Требуются дальнейшие исследования возможных противовирусных эффектов энтероцитов.

Целью исследования было оценить влияние метаболитов *Enterococcus faecium* L3 на репликацию вируса простого герпеса 1 типа (ВПГ1).

В исследовании использовали штамм ВПГ1 Ленинград 248/88 из коллекции НИИ гриппа. Пептиды EntB (5, 47 Да) и EntX-β (4,0 Да) химически синтезировали *in situ* твердофазным методом с использованием синтезатора «Applied biosystems 430A» с использованием производных аминокислот, защищенных Na-Вос. Сырые синтетические пептиды очищали на полупрепаративной колонке. Клетки Vero размещали в 96-луночные планшеты в концентрации 10000 клеток на 1 мл, а затем наносили 100 мкл энтероцинов в концентрации 5–50 мкг/мл. После 60 минут инкубации при комнатной температуре 100 мкл вируса добавляли при 103 доз заражения, 100 мкл поддерживающей среды использовали в контрольных клетках. Цитопатический эффект вируса определяли с помощью легкой или иммунофлуоресцентной микроскопии после 48-часовой инкубации. Эффект противовирусной активности оценивали также путем

окрашивания 0,5 % кристаллическим фиолетовым в 50%-ном этаноле, содержащем 0,25 % глутаральдегида. Цитопатический эффект оценивали, как уменьшение оптической плотности при 630 нм (OD630) с использованием фотометра ELX (Biotek Instruments). Ацикловир (Lek, Словения) 25 мс/мл использовали в качестве контроля эффективности противовирусного эффекта.

Результаты. Цитотоксическая концентрация энтероцинов составляла 100 мкг/мл. EntB и энтероцин Х-α и Х-β демонстрировали противовирусную активность против HSV1, которая наблюдалась при 5–25 мкг/мл, т.е. более чем в 10 раз ниже, чем концентрация цитотоксина. Эта концентрация показала 40–80%-ное ингибирование размножения вируса и 100%-ное ингибирование размножения вируса после добавления ацикловира. ВПГ1 при изолированном введении вызывал наиболее глубокий цитопатический эффект. Добавление ацикловира полностью инактивировало действие вируса, которое принималось за 100 %. Энтероциты демонстрировали 80%-ную противовирусную активность против ВПГ1 в клетках vero, которая наблюдалась в концентрации 6,25 мкг/мл. Введение энтероцинов даже при минимальном разведении снижало цитопатический эффект ВПГ1 на 20 %.

Эти данные подтвердили ранее наблюдавшуюся информацию об противовирусной активности энтероцинов и штамма *E. faecium* L3, блокирующих репликацию ВПГ-1 *in vitro*, сравнимую с эффектом противовирусной химиотерапии. Этот пробиотический штамм может быть использован как лекарственное средство, обладающее противовирусной активностью, обусловленным действием его бактериоцинов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЗА КРОВСОСУЩИМИ КОМАРАМИ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ В 2017 ГОДУ

¹ ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

² ФКУЗ Причерноморская противочумная станция Роспотребнадзора, Новороссийск

Кровососущие комары играют значительную роль как переносчики возбудителей инфекционных заболеваний человека. Азиатский тигровый комар *Aedes albopictus* обнаружен на территории г. Сочи (Ганушкина Л.А. и др., 2013). В последующие годы комары этого вида расселялись по Черноморскому побережью Краснодарского края в западном направлении (Ермолова Н.В., 2016; Забашта М.В., 2016; Ганушкина Л.А., 2017).

Группа специалистов-энтомологов ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора и ФКУЗ Причерноморская противочумная станция Роспотребнадзора осуществляли энтомологическое наблюдение на территории поселков Витязево, Сукко, Су-Псех, Варваровка, Рассвет Анапского района, поселка Кабардинка, городов Новороссийск и Геленджик, а также Крымского района Краснодарского края в июле 2017 г.

Отлов комаров производился методом «на блюдетеля» в течение 20 мин.

Комары отлавливались в 43 точках в природных биотопах. Отловлено 73 имаго кровососущих комаров родов *Culex* и *Aedes*. Собранно 277 личинок рода *Culex*.

В Новороссийском городском округе обследованы кладбища: Солнечное, Мысхакское, Кабахы пригородных поселков Владимировка и Борисовка. На кладбище Солнечное собрано 120 личинок 3–4 возраста рода *Culex* и 17 имаго *Aedes albopictus*. На кладбище Мысхако собрано 25 имаго *Aedes albopictus*. На кладбище п. Борисовка отловлены 1 имаго *Culex pipiens* и 1 имаго *Aedes albopictus*, собрано 80 личинок 3–4 возраста рода *Culex*. На кладбище п. Владимировка отловлен 1 имаго *Aedes albopictus*, собрано 15 личинок 1–2 возраста. Придомовая территория частного подворья по ул. Сулеймана Стальского в г. Новороссийск – отловлены 1 особь *Aedes albopictus*, 4 особи имаго *Culex pipiens*. Личинок кровососущих комаров не обнаружено. В парке Фрунзе и на набережной г. Новороссийска кровососущих комаров обнаружено не было. Энтомологическое наблюдение проводилось на территории поселков Абрау, Дюрсо, Глебовка, Горный Краснодарского края. В п. Глебовка (лес) отловлено 2 имаго *Aedes geniculatus*.

В г. Геленджике обследовано 2 городских кладбища. Личинки кровососущих комаров не найдены,

но на городском кладбище отловлены 4 имаго *Aedes albopictus*, на кладбище по ул. Горной отловлено 2 имаго *Aedes albopictus*.

В Крымском районе Краснодарского края обследованы ст. Неберджаевская, п. Нижнебаканский. На кладбище ст. Неберджаевской собрано 30 личинок комаров 3–4 возраста рода *Culex*. В лесном массиве отловлено 3 имаго *Aedes vexans*. На кладбище в п. Нижнебаканском собрано 12 личинок 3–4 возраста рода *Culex*.

На кладбищах поселков Су-Псех, Варваровка, Рассвет кровососущих комаров отловлено не было, личинки не найдены. Необходимо отметить, что в данном регионе на протяжении многих дней стоит сухая, жаркая погода, что привело к пересыханию небольших водоемов – мест выплода комаров. На кладбище п. Сукко нами отловлено 4 имаго кровососущих комаров: 2 имаго *Aedes geniculatus*, 1 имаго *Culex pipiens*; 1 имаго *Aedes vexans*.

Доля имаго комаров *Aedes albopictus* в сборах – 70 %. Доминирование *Aedes albopictus* в сборах объясняется целенаправленным поиском комаров в природных биотопах, присущих именно этому виду (кладбища, парки, придомовая территория). Относительная численность других видов комаров: *Aedes vexans* и *Aedes geniculatus*, *Culex pipiens* составляет по 10 % каждого вида от общего числа собранных.

Наибольшее видовое разнообразие и высокая численность кровососущих комаров отмечена в Новороссийском городском округе и пригородных населенных пунктах (Абрау-Дюрсо, Широкая балка). Новороссийск (район п. Владимировка) в настоящее время является крайней точкой продвижения комаров *Aedes albopictus* на запад по Черноморскому побережью Кавказа. Распространение комаров этого вида в западном (Анапский городской округ) и северном (Крымский район Краснодарского края) направлениях нами не наблюдалось.

Относительно данных 2016 г. нами отмечены новые места обитания *Aedes albopictus* в г. Новороссийске (кладбище п. Мысхако, кладбище п. Владимировка, кладбище п. Борисовка), в г. Геленджике (кладбище с. Марьяна роща), п. Кабардинка (кладбище). На территории эпидемически значимых объектов комары *Aedes albopictus* не обнаружены.

Таким образом, ареал комаров *Aedes albopictus* в районе г. Новороссийска продолжает расширяться. Если отдаленные от побережья районы Краснодарского края отделены от восточной части Черноморского побережья горами Кавказа, то в районе г. Но-

вороссийска возможно проникновение этого вида в северном направлении. В связи с этим, необходим постоянный мониторинг данных территорий для контроля расселения *Aedes albopictus*, планирования и осуществления противокомариных мероприятий.

ЖИЛЬЦОВА А.Ю., ГЕРАСИМЕНКО Е.В.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭНТОМОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЗА КОМАРАМИ *Aedes albopictus* НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ АБХАЗИЯ В ИЮЛЕ 2017 ГОДА

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Комары *Aedes albopictus* встречаются практически на всем протяжении Черноморского побережья Кавказа до г. Новороссийска. Они являются полусинантропами и приурочены в основном к населенным пунктам, кладбищам, лесопосадкам. Проведение энтомологического мониторинга за данным видом комаров актуально, поскольку они являются эффективными переносчиками ряда возбудителей арбовирусных инфекций, в том числе лихорадок Зика, денге, Чикунгунья, желтой, Западного Нила и др.

Сотрудниками Ставропольского противочумного института второй год проводится работа по эпизоотологическому мониторингу за комарами *Aedes albopictus* на территории Республики Абхазия. В июле 2017 г. проведено очередное обследование территории Сухумского, Гудаутского, Гагрского, Гульрипшского и Очамчирского районов. Всего обследовано 116 точек открытых станций (придомовые территории, кладбища, городские парки, пансионаты, гостиницы, школы) городов Сухум, Гагра, Гудаута, Новый Афон, а также поселков Пицунда, Калдахуара, Мачары, Кындык. За единицу учета комаров в природных биотопах (1 точка наблюдения) было взято стандартное время наблюдения – 20 минут на 1 наблюдателя. Результаты обследования представлены ниже.

В г. Сухум обследовано 43 точки. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем составила 1,6 экз. на 1 чел. за 20 мин. (в июле 2016 г. численность была 9,4 экз.).

В г. Новый Афон обследовано 20 точек. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем со-

ставила 0,9 экз. (в июле 2016 г. численность была 5,5 экз.).

В г. Гудаута и п. Калдахуара обследовано 20 точек. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем составила 1,8 экз. (в июле 2016 г. численность была 4,2 экз.).

В Гульрипшском р-не (с. Мачары, с. Агдаара) и Очамчирском р-не (п. Кындык) обследовано 6 точек. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем составила 1,3 экз. (в июле 2016 г. численность была 11 экз.).

В п. Пицунда обследовано 13 точек. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем составила 1,3 экз. (в июле 2016 г. численность была 3,9 экз.).

В г. Гагра обследовано 14 точек. Численность комаров *Aedes albopictus* в среднем составила 1,1 экз. (в июле 2016 г. численность была 11 экз.).

Таким образом, по сравнению с 2016 г. в текущем году отмечена более низкая численность имаго комаров *Aedes albopictus* в открытых станциях. В июле 2016 г. индекс обилия имаго *Aedes albopictus* составил 7,7 имаго на 1 точку наблюдения. В июле 2017 г. индекс обилия – 1,1 имаго на 1 точку наблюдения. Снижение объясняется неблагоприятными погодными условиями для выплода комаров – высокой температурой и малым количеством осадков. В первой декаде июля температура воздуха достигала 38 °С (pogoda.mail.ru). В первой половине июля (1–15 июля) 2017 г. среднесуточная температура воздуха составила 27,4 °С, дней с дождем – 1, а в 2016 г. среднесуточная температура воздуха составила 25 °С, дней с дождем – 3.

ЗАМАРИНА Т.В., ХАНАНИ Е.И., ГОЛОСЕЕВ Ю.А.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ОЧИСТКИ ИММУНОПЕРОКСИДАЗНЫХ КОНЪЮГАТОВ НА ОСНОВЕ МЕЛИОИДОЗНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Экспериментально доказано преимущество использования моноклональных антител (МКА) для конструирования компонентов иммуноферментных тест-систем, в том числе и для изготовления иммунопероксидазного конъюгата (ИПК) (Храпова Н.П. с соавт., 2014). Применяемый в настоящее время метод получения ИПК (Nakane P.K. и Kawaoi A., 1974) включает метку МКА ферментом, очистку ИПК гель-хроматографией на колонке с сефадексом G-100 с регистрацией оптической плотности элюата при 280 и 403 нм. Полученные фракции со спектрофотометрическими показателями ОП403/ОП280, равными 0,4–0,6 (величина RZ), объединяют и определяют рабочее разведение ИПК с помощью шахматного титрования в двухкомпонентной реакции с контрольным антигеном.

Цель работы – оптимизация очистки иммунопероксидазного конъюгата на основе МКА к возбудителю мелиоидоза. Для этого нами предложен метод очистки конъюгата жидкостной хроматографией на колонке HiPrep 16/60 Superdex 200 с помощью комплексной автоматизированной системы АКТАpurifier (GE Healthcare) с установленной программой управления UNICORN и последующим

концентрированием препарата методом ультрафильтрации.

В работе использовали МКА мелиоидозные 2А6, в качестве контрольного антигена (АГ) брали водно-солевой экстракт *B. pseudomallei* 56830. Препарат меченых МКА в объеме 2 мл с концентрацией белка 5 мг/мл наносили на колонку, элюцию проводили со скоростью потока 0,5 мл/мин в 0,1 М фосфатном буфере рН 7,4. Выделенные фракции собирали в объеме 2 мл. Объем препарата с оптимальным показателем RZ после хроматографии составил 11,5 мл, что в среднем в 2,5 раза выше по сравнению с ранее применяемой методикой. Концентрация белка составляла 132 мкг/мл, ОП403/ОП280 – 0,534, рабочее разведение – 1/80. Концентрирование полученного образца проводили ультрафильтрацией на фильтре РМ-30 (Amicon). В результате препарат был сконцентрирован до 5 мл. Активность полученного препарата в реакции с контрольным АГ после концентрирования возросла в 2 раза (с 1/80 до 1/160).

Таким образом, в результате оптимизации метода очистки ИПК мелиоидозного удельная активность препарата возросла в 2 раза, количество увеличилось в среднем в 2,5 раза.

ЗАХАРОВ М. В.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОНСТРУИРОВАНИЮ АНТИГЕННЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЛИСТЕРИОЗНЫХ ДИАГНОСТИКУМОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИИ ЛИСТЕРИОЗОМ У ЛЮДЕЙ

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Листерииоз – сапрозоонозное инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое патогенными представителями рода *Listeria*, характеризуется множеством источников и резервуаров инфекции, разнообразием путей и факторов передачи возбудителя, полиморфизмом клинических проявлений, высокой летальностью у новорожденных и лиц с иммунодефицитами. Иногда отмечается бессимптомное течение болезни.

Заболелаемость листериозом в настоящее время связана с употреблением в пищу различных продуктов животного, растительного происхож-

дения и морепродуктов. Ранее заболеваемость листериозом выявлялась у работников сельского хозяйства, контактирующих с больными животными. *L. monocytogenes* является возбудителем природно-очагового заболевания, переносчиками которого являются многие дикие и синантропные животные (Шубин Г.Г. и др., 2009).

Особая опасность листерий, как возбудителя листериоза, связана с их адаптивной способностью к размножению в природных условиях: на растениях, в почвенных субстратах, водоемах, в диапазоне температур от +4 °С до +45 °С, при колебании рН

от 4,8 до 9,0, в присутствии высокой концентрации натрия хлорида и уголекислоты.

Заболевание листериозом имеет очень высокую летальность, особенно у новорожденных и беременных (20–30 %) с увеличением в человеческой популяции доли лиц с различными иммунодефицитами, наиболее восприимчивых к этой инфекции.

Традиционная лабораторная диагностика листериоза основана на результатах бактериологических исследований. Но, несмотря на то, что серологические методы нуждаются в совершенствовании, в настоящее время именно они являются более перспективными в связи с созданием новых диагностических препаратов на основе полимерных носителей для агглютинационных реакций, так как они не требуют особых условий и специального оборудования.

Хотя известно не менее 16 сероваров *L. monocytogenes*, большая часть случаев заболеваний связана с сероварами 4b, 1/2a, 1/2b. Штаммы серовара 4b вызывают около 50 % всех случаев листериоза в мире, хотя среди штаммов, выделяемых из зараженных продуктов, преобладают сероварианты 1/2a, 1/2b, 1/2c (Кареткина Г.Н., 2008).

Важнейшим фактором патогенности листерий является листериолизин О, обладающий гемолитической активностью и определяющий вирулентность микроба; к менее значимым относятся белок р60, фосфатидилиназитол, интерналин А, интерналин В, белок ActA, а также флагеллин (Тартаковский И.С., 2000). Они представлены поверхностными и секретируемыми белками, имеющими различные функции.

Ускоренные методы позволяют существенно (на 24–48 ч) сократить продолжительность исследований. Обладая высокой чувствительностью, они обеспечивают надежное выявление *L. monocytogenes* в анализируемом материале.

К наиболее иммуногенным белкам листерий относятся факторы патогенности: листериолизин О, интерналины А, В и С, ActA, аутолизин р60 и флагеллин. В отечественной практике для выявления антител к листериям в сыворотках крови животных и человека традиционно используются два метода. Первый метод – реакция связывания комплемента с инактивированным цитоплазмным антигеном (РСК). Второй – реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) с эритроцитарным диа-

гностикомом. Описаны методы выявления антител к листериолизину О, фосфатидилинозитол – специфичной фосфолипазе С, интерналину А. Все более широкое применение получают ИФА тест-системы для определения G-иммуноглобулинов на те же самые факторы патогенности. Недостатком метода РНГА является нестабильность эритроцитов, используемых в качестве носителя антигенов. Кроме того, при проведении РНГА и РСК достаточно высок процент ложноотрицательных и ложноположительных результатов исследования.

Установить диагноз листериоза по клинико-эпидемиологическим данным исключительно трудно из-за полиморфизма клинических проявлений и невозможности в ряде случаев выявить источник инфекции.

Реакция агглютинации латекса является одним из ускоренных методов лабораторной диагностики листериоза. Для выявления антител или антигенов в различных субстратах применяют диагностические препараты, созданные на основе полимерных носителей. Благодаря своим физико-химическим свойствам, полимерные частицы являются удобными носителями при создании различных диагностических тест-систем. Преимущество реакции латекс-агглютинации заключается в следующем: простота и быстрота выполнения, отсутствие необходимости в сложной аппаратуре, воспроизводимость и точность, возможность получения больших партий стандартных и однородных полимерных суспензий (Бровкина А.Н., 1999). Принцип работы антительных (антигенных) латексных диагностикомов основан на иммунохимической реакции между антителами (антигенами), связанными с полимерным носителем, который выполняет исключительно индикаторную функцию, и антигенами (антителами) с образованием комплекса антиген-антитело. Появление таких комплексов в виде агглютинатов позволяет проводить учет реакции невооруженным глазом.

Так как диагностические препараты, созданные на основе полимерных носителей, могут быть широко применены в реакции латекс-агглютинации для выявления соответствующих антигенов в различных субстратах, проблема разработки латексных диагностикомов не теряет своей актуальности и имеет большое практическое значение.

**ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА ЖИРНЫХ КИСЛОТ БАКТЕРИЙ ВИДА
*LISTERIA MONOCYTOGENES***ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Возбудителем листериоза у человека являются представители вида *Listeria monocytogenes*. Метод детектирования микроорганизмов по видоспецифичным высшим жирным кислотам (ЖК) клеточной стенки сходен с генетическим анализом (ПЦР, определение последовательности нуклеотидов 16sРНК и пр.), поскольку состав жирных кислот детерминирован в ДНК и воспроизводится путем репликации участка генома транспортными РНК и последующего синтеза ЖК по матричным РНК. Для реализации метода используется хромато-масс-спектрометрия с мультиионным селективным детектированием структурных жирных кислот (Осипов, 2009).

Целью работы явилось выявление состава жирных кислот (ЖК) бактерий вида *L. monocytogenes* методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии с использованием газового хромато-масс-спектрометра «Маэстро-2» производства фирмы «Interlab» для оценки возможности идентификации, профилирования и паспортизации исследуемых микроорганизмов.

Исследование проводили на штаммах микроорганизмов *L. monocytogenes* сероваров 1/2a и 4a, выращенных кровяном агаре Мюллера-Хинтона с добавлением 5% дефибринированной лошадиной крови (КМХ) и питательной среде для культивирования листерий (СКЛ) (ФГУП МЗ РФ НПО «Микроген») при температуре 33 °С.

Идентификацию бактерий осуществляли на основании морфологических, тинкториальных, культуральных, серологических и биохимических свойств. Приготовление образцов для анализа ЖК включает в себя сбор клеток бактерий с поверхности агара, метилирование жирных кислот, экстракцию эфиров и их селирование.

Тип продуцируемых жирных кислот, относительные концентрации индивидуальных кислот строго зависят от генотипа микроорганизма и являются характерными для того или иного вида бактерии или штамма (Захарова Ю.В. и др., 2015). Факторы окружающей среды могут оказывать влияние на состав и концентрацию жирных кислот. Среди таких факторов определяющими являются питательная среда, температура и время инкубации.

Среди насыщенных жирных кислот у бактерий *L. monocytogenes* были обнаружены: миристиновая кислота (С14:0), пальмитиновая кислота (С16:0), пентадециловая кислота (С15:0), маргариновая кислота (С17:0), стеариновая кислота (С18:0). Среди

мононенасыщенных жирных кислот обнаружены: пальмитолеиновая кислота (С16:1d7), вакценовая кислота (С18:1d10), эруковая кислота (С22:1d13). Также обнаружены полиненасыщенные жирные кислоты: арахидоновая кислота (С20:4d5,8,11,14) и олеиновая кислота (9-октадеценовая) (С18:2d9,11). Получена группа разветвленных жирных кислот 13-метил-миристиновая кислота (13Ме14:0), 12-метил-миристиновая кислота (12Ме14:0), 9-метил-миристиновая кислота (9Ме14:0), 15-метил-пальмитиновая кислота (15Ме16:0), 14-метил-пальмитиновая кислота (14Ме16:0).

Количественно высокие концентрации имели 13-метил-миристиновая кислота (13Ме14:0) – 3,49–8,6 %, 12-метил-миристиновая кислота (12Ме14:0) – 18,28–30,89 %, пальмитиновая кислота (С16:0) – 8,41–22,35 %, 14-метил-пальмитиновая кислота (14Ме16:0) – 27,53–35,84 %, стеариновая кислота (С18:0) – 9,02–29,99 %, остальные жирные кислоты не превышали 3,18 %. При культивировании на различных питательных средах показано, что количество насыщенных ЖК значительно превышало на среде СКЛ, в то время как на КМХ преобладали разветвленные ЖК. В целом, в ходе исследования отклонение соотношения концентрации ЖК в зависимости от типа штаммов и условий культивирования не выявило значительных различий в спектрах ЖК. Выявленные колебания концентрации насыщенных ЖК связаны с условиями культивирования штаммов и являются незначительными.

Большое разнообразие и в то же время специфичность ЖК микроорганизмов обуславливают возможность родовой и даже видовой идентификации бактерий. Присутствие ненасыщенных и разветвленных ЖК увеличивает текучесть мембраны микроорганизмов и, как следствие, адаптацию к меняющимся внешним условиям культивирования (Захарова Ю.В. и др., 2015).

При этом синтез ненасыщенных и метилразветвленных ЖК регулируется такими внешними факторами как температура, наличие органических липофильных соединений микробного происхождения и разветвленных короткоцепочечных карбоновых кислот в микробном сообществе. Таким образом, показано, что метод хромато-масс-спектрометрии может быть использован для идентификации микроорганизмов по профилю ЖК вне зависимости от типа применяемых для культивирования питательных сред (Будников Г.К., 2010).

**ОЦЕНКА ВКЛАДА БАРТОНЕЛЛ В ИНФЕКЦИОННУЮ ПАТОЛОГИЮ НАСЕЛЕНИЯ
ОМСКОЙ ОБЛАСТИ**ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора,
Омск

Бартонеллезы – заболевания, обусловленные бартонеллами. Род *Bartonella* в настоящее время насчитывает более 30 видов, выделенных из крови и тканей больных людей, из вшей, клещей, москитов, от кошек, собак, диких грызунов и др. Клиническая картина бартонеллезов у человека отличается крайним разнообразием: от легких местных расстройств лимфо- и кровообращения (болезнь кошачьих царапин, лимфаденопатия, бациллярный ангиоматоз кожи) до более серьезных острых, часто рецидивирующих (траншейная лихорадка) или длительно текущих (бациллярный ангиоматоз с некротизацией, пурпурный гепатит или сплениит, хроническая септическая бактериемия, эндокардит). Наиболее злокачественно протекает острая форма болезни Карриона, известная как лихорадка Оройя, при которой смертность раньше достигала 40 %, а в отдельных вспышках – 90 %. Географическое распространение бартонелл изучено недостаточно. Бесспорно, установлена эндемичность возбудителя болезни Карриона – *Bartonella bacilliformis*, который распространен только на Северо-Западе Южной Америки в горных районах Анд. Наиболее распространенными, по-видимому, являются возбудители болезни кошачьей царапины (*cat scratch disease* – англ.) и траншейной лихорадки, переносчиками которых являются, соответственно, кошачьи блохи и платяные вши человека. Болезнь кошачьей царапины (БКЦ) известна во Франции и США, по крайней мере, с 1932, в России – с 1955 г. В США заболеваемость лихорадкой от кошачьих царапин составляет 24000 случаев в год. В РФ работа по детекции бартонелл в природных очагах и клиническом материале представлена немногочисленными исследованиями. В Новосибирской области бартонеллы идентифицированы в иксодовых клещах, комарах и крови больных (Морозова О.В. и др., 2006), на Дальнем Востоке – в мелких млекопитающих (Медяников О.Ю. и др., 2005). В Московской области бартонеллы были выделены от больных с эндокардитом и от диких мелких млекопитающих (Марков А.П. и др., 2006; Кириллов М.Ю. и др., 2007).

Цель работы – установление роли бартонелл в инфекционной патологии населения Омской области.

Был проведен анализ многолетних данных по изучению бартонеллезов в Омской области.

В Омской области скрининговые исследования по выявлению бартонеллезов начали проводить с

2005 г. в Омском НИИ природно-очаговых инфекций. Объектами исследования были больные с лимфаденитами и эндокардитами, дикие мелкие млекопитающие, иксодовые клещи, платяные вши, домашние кошки.

При бактериологическом исследовании 77 проб органов диких мелких млекопитающих из 2 районов Омской области (Омский и Тюкалинский) было выделено 2 культуры (2,6 %) на кровяном агаре, принадлежность их к роду *Bartonella* подтверждена молекулярно-биологическим методом (полимеразной цепной реакцией – ПЦР). Одна культура была выделена из головного мозга рыжей полевки, отловленной в октябре 2005 г. в Тюкалинском районе вблизи озера Теннис, вторая культура – из селезенки красной полевки, отловленной вблизи с. Подгородка Омского района (Рудаков Н.В. и др., 2007).

В результате исследования органов мелких млекопитающих, отловленных в Омском и Тюкалинском районах, в ПЦР с последующим секвенированием в 11,9 % были выявлены ДНК бартонелл двух известных видов: *Bartonella grahamii* и *Bartonella taylorii*, а также неизвестного ранее вида бартонелл, названного «*Candidatus Bartonella rudakovii*» (Самойленко И.Е. и др., 2011).

При исследовании 439 экземпляров клещей, снятых с людей в разных районах Омской области, ДНК бартонелл обнаружена в 26 (5,9 %), в 9 пробах методом секвенирования была идентифицирована *Bartonella henselae*. В 1 экземпляре клеща из Нижнеомского района обнаружена ДНК двух патогенов: бартонелл и риккетсий (Березкина Г.В. и др., 2016).

При исследовании платяных вшей, снятых с лиц БОМЖ, было выявлено 15,0 % положительных проб (Коломеец А.Н. и др., 2008).

Исследование в ПЦР 26 проб органов домашних кошек из Знаменского района и проб крови 8 пациентов с диагнозом эндокардит не выявило положительных результатов.

При исследовании сывороток крови от 388 больных с лимфаденопатией антитела к бартонеллам в реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) с антигеном *B. henselae* выявлены в 9 случаях (2,3 %). Диагноз БКЦ был поставлен четырем больным детям в возрасте от 3 до 6 лет, проживающим в Горьковском районе, обследовавшимся целенаправленно на данную инфекцию. Царапины детям были нанесены домашними кошками (частный сектор), локализовались в области лица или

рук. У всех детей отмечено увеличение регионарных лимфатических узлов (шейных, затылочных, подмышечных). У двух больных наблюдалась лихорадка до 39 °С, им была проведена антибиотикотерапия. В трех случаях было получено нарастание титра антител в парных сыворотках: у двух больных с отрицательного результата при первом исследовании до положительного в титре 1:40 при повторном, у одного больного — с 1:10 до 1:160. В четвертом случае – однократно титр 1:80 (Березкина Г.В. и др., 2010).

Таким образом, анализ многолетних данных по изучению бартоanelлез в Омской области показал, что при целенаправленном исследовании материалов из природных очагов и от больных на бартоanelлы удается выявлять как ДНК возбудителя, так и антитела к нему.

К сожалению, диагностика бартоanelлез в нашей стране проводится недостаточно. Это связано с отсутствием стандартных диагностических препа-

ратов. Поэтому их разработка является актуальной задачей. В будущем мы планируем разработать препарат для серологической диагностики бартоanelлез. Препарат будет представлен набором предметных стекол с зафиксированным в лунках стандартизованным корпускулярным антигеном *B. henselae* для РНИФ. Препарат находится на этапе экспериментальной разработки. Следующий этап – апробация на клиническом материале: исследование сывороток крови больных с симптоматикой, характерной для бартоanelлез (лимфадениты, эндокардиты и др.) из различных инфекционных и кардиологических стационаров города Омска и Омской области. Кровь больных будет исследована молекулярно-генетическим методом на наличие ДНК бартоanelл и серологическим методом на наличие антител к бартоanelлам. При получении положительных результатов пациентам будет назначено специфическое лечение, эффективность которого будет подтверждаться повторным исследованием.

ЗИБАРЕВ Е.В., АФАНАСЬЕВ А.С.

РАЗРАБОТКА ГЕОИНФОРМАЦИОННОГО ПОРТАЛА ДЛЯ УЧЕТА ИСТОЧНИКОВ ЭМИ РЧ ОТ ПЕРЕДАЮЩИХ РАДИОТЕХНИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

ФБУН «СЗНЦ гигиены и общественного здоровья»,
Санкт-Петербург

На протяжении всей жизни человек постоянно находится под воздействием электромагнитных излучений. Спектр излучений захватывает значительный диапазон длин волн. Высокий темп современной жизни требует от человека постоянной коммуникации и передачи все более значительных объемов информации. Для решения этих задач инженеры проводят постоянное усовершенствование систем связи, внедрение новых стандартов связи, расширение частотных диапазонов и модуляции сигналов. На сегодняшний день основными источниками электромагнитных излучений, воздействующих на население, являются мобильные телефоны сотовой связи, а также передающие радиотехнические объекты связи. Также значительное место занимают объекты радио-, телевидения и радионавигации.

На основании данных сотовых операторов количество абонентов по числу sim-карт в России по итогам второго квартала 2016 г. достигло 251,6 млн., что наряду с увеличивающейся интенсивностью их использования создает уровни экспозиции для населения, соизмеримые с профессиональными уровнями. Повсеместное внедрение беспроводных средств доступа в интернет усугубляет сложившуюся ситуацию.

При анализе структуры стационарных ПРТО, становится очевидным рост количества строящихся базовых станций сотовой связи (БС СС). По данным Роспотребнадзора они занимают первое ранговое место в структуре всех ПРТО (с 2014 г. доля их увеличилась с 84 до 96 % в 2016 г.), с приростом до 12 %. БС СС являются относительно маломощными объектами (излучаемая мощность до 50 Вт), однако большинство из них располагаются в черте жилой застройки, рядом с жилыми и общественными зданиями и помещениями и имеют в связи с этим большую гигиеническую значимость.

Все вышеперечисленные факты, а также взрывной рост количества и возрастающая сложность ПРТО, явились предпосылками для создания геоинформационного портала для учета источников ЭМИ РЧ от передающих радиотехнических объектов. В настоящее время разработан прототип данного портала.

Геоинформационный портал учета источников ЭМИ РЧ предполагается к внедрению на федеральном уровне с возможностью межведомственного взаимодействия. Размещение на едином сервере Роспотребнадзора позволит централизовать информацию и создать единую базу данных. Информация будет пополняться за счет данных

Управлений Роспотребнадзора по субъектам РФ. Разработанная система будет иметь интерфейс для набора данных, позволяющих ее синхронизировать с данными радиочастотного центра, а Роспотребнадзор в лице центрального аппарата и Управлений Роспотребнадзора по субъектам РФ будут иметь возможность формировать сводные отчеты и статистику по разным запросам (количество жалоб, уровни ЭМИ, плотность размещения объектов и т.д.).

Целью создания данного прототипа являлось формирование единого информационного пространства с возможностью решения аналитических задач.

Для визуализации данных на геоинформационном портале используется картографическая подложка в интерфейсе браузера. Места установки ПРТО имеют четкую привязку к местности во всех основных координатных системах (СК-42, СК-95, ГСК-2011, WGS-84).

В геоинформационном портале имеется возможность отображения основных технических характеристик источников ЭМИ. Любой пользователь может увидеть их в режиме просмотра (онлайн). Унифицированный формат ввода данных в виде файл-подгрузки решает вопрос наполнения системы, которая формирует исходные данные во вну-

тренней базе данных. Также имеется возможность синхронизации данных об источниках ЭМИ с базой данных Роскомнадзора и радиочастотных центров.

Отличительной особенностью данной системы является то, что по результатам обработки вводимых технических характеристик источников ЭМИ на картографической подложке формируются зоны с особым режимом использования (санитарно-защитные зоны и зоны ограничения застройки) в графическом и табличном виде. Формирование вышеуказанных зон происходит с учетом всех РЭС, установленных на рассматриваемой площадке, а также на прилегающих территориях учитывая возможность формирования единых санитарно-защитных зон и зон ограничения застройки в результате суммации ЭМП.

Практические преимущества внедрения ГИС-системы состоят в том, что будут полностью автоматизированы процессы сбора, обработки и хранения информации по объектам надзора и как следствие, снижено влияние человеческого фактора при выработке обоснованных решений специалистами Роспотребнадзора. Органы и организации Роспотребнадзора будут владеть действительно актуальной информацией, что сократит время рассмотрения поступающих заявок, жалоб и обращений до момента вынесения решения.

ИМАНГАЛИЕВ Б.С. ¹, УЛИТКО М.В. ²

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ДЕРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА

¹ ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, Екатеринбург

² ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург

Нанотехнология – одно из самых перспективных направлений в современной науке и технике. Применение наночастиц широко вошло во многие сферы деятельности человека. Способность наночастиц проникать вглубь тканей, клетки и ядра может применяться в медицине. Существенно расширяются возможности молекулярной диагностики и идентификации биомаркеров, что создает предпосылки для совершенствования терапии и прицельной доставки лекарственных препаратов. Это активно изучается в новом направлении экспериментальной медицины, получившем название «Наномедицина».

Наномедицина подразумевает применение технологических возможностей и объектов нанотехнологии с целью диагностики и лечения заболеваний или улучшения биологических функций

организма. В развитии современных нанотехнологий значительную роль играют исследования наночастиц железа. Это обусловлено, прежде всего, широким спектром возможностей их практического применения, в которых используются специфические свойства как самих наночастиц, так и модифицированных ими материалов. В связи с применением нанотехнологий становится актуальным изучение вопросов безопасности применения наночастиц и оценки их токсического влияния на окружающую среду и здоровье человека.

Целью данной работы являлось сравнительное исследование биологического действия наночастиц железа на первичную клеточную культуру дермальных фибробластов.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1) исследовать изменение жизнеспособности дермальных фибробластов человека после воздействия железосодержащих наночастиц;

2) оценить пролиферативную активность дермальных фибробластов человека после воздействия железосодержащих наночастиц;

3) провести морфологическую оценку дермальных фибробластов человека после воздействия наночастиц железа.

Для исследования была использована первичная культура дермальных фибробластов человека, выделенная из биоптата кожи в Институте медицинских клеточных технологий (г. Екатеринбург, Россия). Клетки культивировали при 37 °С, концентрации CO₂ 5 и 95 % влажности в среде DMEM/Nam F-12. В экспериментах были использованы коллоидные растворы наночастиц: Fe³O₄, FeCNH₂ и FeSiO₂. Индекс пролиферации рассчитывали по стандартной методике: отношение числа выросших клеток к числу посеянных. Процент жизнеспособных клеток оценивали согласно международному стандарту ISO 10993-5 при подсчете живых и мертвых клеток после их окрашивания 0,4%-м раствором трипанового синего.

После воздействия наночастиц Fe₃O₄ в концентрации 0,01 мг/мл на клеточную линию дермальных фибробластов человека, жизнеспособность клеток значительно снижалась по сравнению с контрольной группой на протяжении всего эксперимента.

Под воздействием наночастиц FeCNH₂ в концентрациях 0,01 мг/мл и 0,05 мг/мл снижение жизнеспособности дермальных фибробластов человека наблюдается на 1-е сутки. На 5-е сутки снижение жизнеспособности клеток наблюдается после воздействия FeCNH₂ в концентрации 0,05 мг/мл.

Показатель пролиферативной активности клеточной линии дермальных фибробластов человека после воздействия наночастиц FeCNH₂ в концентрации 0,05 мг/мл возрос на 3-и сутки и снизился на 5-е сутки при той же концентрации.

Под воздействием наночастиц FeSiO₂ снижение жизнеспособности наблюдается на 1-е сутки в кон-

центрации 0,01 мг/мл. Однако, после воздействия FeSiO₂ в концентрации 0,05 мг/мл проявилось повышение жизнеспособности клеток на 1-е сутки. На 5-е сутки снижение жизнеспособности клеток наблюдается после воздействия FeSiO₂ в концентрациях 0,01 и 0,05 мг/мл.

Пролиферативная активность клеточной линии дермальных фибробластов человека снижается на 1-е и 3-и сутки после воздействия FeSiO₂ в концентрациях 0,01 и 0,05 мг/мл.

Морфологический анализ показал, что наночастицы FeCNH₂ и FeSiO₂ в концентрациях 0,01 и 0,05 мг/мл проникают через клеточную оболочку фибробластов и локализуются в перинуклеарном пространстве, а также, в отличие от контроля, оказывают влияние на форму клеток. Значительного повреждающего действия на клетки не наблюдается.

Проявляются признаки нарушения морфологии клеток, исчезают отростки, клетки изменяют свою форму после воздействия наночастиц Fe₃O₄ в концентрациях 0,01 и 0,05 мг/мл. Дермальные фибробласты человека в контроле имеют веретеновидную, отростчатую форму. Наночастицы не накапливаются в определенных участках клеток.

Таким образом,

1) влияние железосодержащих наночастиц на жизнеспособность и пролиферативную активность клеток зависит от вида, дозы и длительности воздействия наночастиц;

2) наибольшее повреждающее воздействие на клеточные культуры оказывают наночастицы FeSiO₂, которые проявили максимальную цитотоксичность;

3) в первичной культуре фибробластов человека снижение жизнеспособности сопровождается ослаблением пролиферации;

4) под воздействием железосодержащих наночастиц в клеточных культурах развиваются морфологические изменения, такие как изменение формы и размеров клеток, уменьшение или увеличение числа отростков, пикноз ядер, увеличение количества ядрышек.

КАЛИНИН А.В.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Представители рода *Bacillus* являются одними из наиболее распространенных микроорганизмов, выделяемых из почвы. Эта гетерогенная таксономическая группа спорообразующих бактерий содержат более 65 видов, при этом новые виды от-

крываются непрерывно (Saile E., Koehler T.M., 2006; Hugh-Jones M., 2009; Carlson C.J. et al., 2017). Физиологическая и метаболическая универсальность бацилл обеспечивает быстрое прорастание спор в благоприятных условиях окружающей среды (Van

Ness G.B., 1971; Hugh-Jones M., 2009; Mullins J.C. et al., 2013). Род *Bacillus* состоит в основном из сапрофитных организмов, но наибольший интерес для медицинской микробиологии представляет таксономическая группа *Bacillus cereus* (sensu lato), так как в нее входят три вида, вызывающие заболевания у млекопитающих: *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis*. Данная группа формирует независимую ветвь в роде *Bacillus* и в настоящее время включает восемь видов: *B. cereus* (sensu stricto), *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus weihenstephanensis*, *Bacillus cytotoxicus* и *Bacillus toyonensis* (Skerman et al., 1980; Lechner et al., 1998; Guinebrerière et al., 2013; Jiménez et al., 2013). Недавно были открыты три новых вида: *Bacillus gaetokensis*, *Bacillus manliponensis* и *Bacillus bingmayongensis*, которые так же были отнесены к группе *B. cereus*. Межвидовая дифференциация внутри группы *B. cereus* довольно сложна и традиционно основана на различиях в культурально-морфологических, биохимических признаках, чувствительности к специфическим бактериофагам, наличии специфических локусов генома, данных ДНК-гибридизации и 16S рРНК последовательностей, что не всегда позволяет четко определить межвидовые границы (Vecchi G.D. et al., 2006; Van Erta M. N. et al., 2007).

B. thuringiensis продуцирует дельта-эндотоксин, который токсичен для насекомых. Однако, некоторые штаммы *B. thuringiensis* могут вызвать раневую инфекцию после тяжелой травмы.

B. cereus является оппортунистическим патогеном, который может привести к послеоперационным инфекциям у пациентов, а также может синтезировать токсины, связанные с рвотным и диарейным синдромами при пищевых отравлениях.

Из всей этой группы только *B. anthracis* обладает выраженными патогенными свойствами по отношению к человеку и большому количеству видов животных, вызывая инфекционное заболевание, характеризующееся острым течением, тяжестью и высокой летальностью. *B. anthracis* является этиологическим агентом сибирской язвы. К данному возбудителю восприимчивы многие млекопитающие и некоторые птицы, в основном он поражает травоядных млекопитающих. Спорадические случаи заболевания сибирской язвой происходят регулярно во всем мире, и болезнь энзоотична в большинстве африканских и азиатских стран, а так же в странах Европы, Северной и Южной Америки и Австралии (Turnbull P.C.B., 2002; Van Erta M.N. et al., 2007; Hugh-Jones M., 2009).

Плейоморфизм в пределах этой видовой линии паразителен, учитывая, что сравнительная геномика показывает относительно незначительные генетические различия; таким образом, аналогичный основной набор генов обеспечивает успешное существование в различных молекулярно-

ных формах, что способствует сохранению вида в различных условиях (Vecchi G.D. et al., 2006; Van Erta M.N. et al., 2007; Carlson C.J. et al., 2017).

Основная парадигма экологического цикла *B. anthracis* акцентируется вокруг метаболически неактивных спор. В природе, травоядные глотают или вдыхают споры из почвы во время выпаса. Споры, попадая на слизистые оболочки глотки или кишечника, через пораженные участки тканей попадают в лимфотическую систему организма хозяина. После прорастания спор, вегетативные клетки сибирской язвы быстро размножаются в крови, спинномозговой жидкости и других тканях, формируя капсулу и продуцируя сибирязвенные токсины. После гибели зараженного животного, споры попадают в почву или воду при вскрытии трупа или его разрушении хищниками. В условиях доступа кислорода начинается образование спор в органических остатках погибшего животного (Saile E., Koehler T.M., 2006; Fischetti V.A., 2009). Почва в местах гибели и захоронения животных служит первичным источником дальнейшего заражения в течение многих десятилетий. Показательным является повторное возникновение эпизоотии сибирской язвы у оленей в Ямало-Ненецком автономном округе России в 2016 г. после более семидесяти лет отсутствия проявлений данной инфекции в этом регионе.

Было высказано предположение, что в межэпизоотический период *B. anthracis* может не только сохраняться, но и размножаться в «областях инкубации» в почвах, богатых минеральными и органическими веществами с pH выше 6,0 и температурой выше 15 °C, которые топографически коррелируют с расположением территорий, в которых периодически происходит заражение животных *B. anthracis* (Turnbull P.C.B., 2002; Fischetti V.A., 2009; Hugh-Jones M., 2009). Однако данная гипотеза еще не нашла достаточного научного подтверждения.

Известно, что *B. cereus* может существовать в корневой зоне растений и необходимо учитывать вероятность прорастания спор *B. anthracis* в ризосфере и размножения вегетативных клеток *B. anthracis* в этой экологической нише. Было подтверждено, что в ризосфере могут существовать жизнеспособные бациллы сибирской язвы (Van Ness G.B., 1971; Saile E., Koehler T.M., 2006; Mullins J.C. et al., 2013), но стоит отметить, что вне модельной системы вегетативные клетки *B. anthracis* еще не были обнаружены.

Недавние экологические исследования показали, что сибирязвенные бациллы могут взаимодействовать не только с корневой зоной растений, но и с некоторыми другими членами почвенного сообщества, это могут быть дождевые черви, почвенные амебы, бактериофаги. Выявлено, что воздействие бактериофагов на *B. anthracis* может вызывать фенотипические изменения бацилл, обеспечивающие им возможность эндосимбио-

тического существования в организме дождевых червей, а также функционировать в качестве сапрофитов в почве и воде. В смоделированных условиях окружающей среды было показано, что споры вирулентного штамма *B. anthracis* Ames прорастают и вегетируют внутриклеточно в почвенной амёбе, которая обитает в увлажненных почвах и стоячей воде, и было доказано значение плазмиды pXO1 для существования *B. anthracis* в рамках таких экологических взаимодействий

(Turnbull P.C.V. et al., 199; Dey R. et al., 2017). Исходя из этого, можно предположить, что амёбы и, возможно, другие почвенные простейшие могут быть потенциальными организмами-хозяевами для сибиреязвенных бацилл, и то, что жизненный цикл бактерии не ограничен стандартной парадигмой развития сибирской язвы. Экологические взаимодействия *B. anthracis* вне организма хозяина является фундаментальным вопросом, требующим тщательного изучения и проверки.

КАНАЕВА О.И.

ПОДЪЕМЫ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НА РЯДЕ ТЕРРИТОРИЙ РФ В 2016 ГОДУ

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

Эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) на территории Российской Федерации осуществляется с 2006 г. В постсертификационный период ликвидации полиомиелита надзор за энтеровирусной инфекцией рассматривается как составляющая часть надзора за полиомиелитом. Непوليوмиелитные энтеровирусы (НПЭВ) обуславливают как спорадическую, так и вспышечную заболеваемость. Особенностью энтеровирусов (ЭВ) является отсутствие клинических симптомов заболевания в 85 % случаев после инфицирования. Наиболее частая форма энтеровирусной инфекции, требующая госпитализации, – энтеровирусный менингит (ЭВМ).

Санкт-Петербургский региональный центр (СПб РЦ) по надзору за полиомиелитом и острыми вялыми параличами курирует 14 территорий РФ. С целью слежения за циркуляцией непوليوмиелитных энтеровирусов среди населения и в окружающей среде в 2016 г. методом ПЦР и вирусологическим методом было исследовано 2138 проб фекалий от больных ЭВИ и 1415 проб сточной воды.

Процент выделения НПЭВ от больных составил 13,7 % (292 изолированных энтеровируса). По результатам типирования с наибольшей частотой выделялись ЭВ ЕСНО 30 (25,4 %), Коксаки В1-6 (20,5 %), Коксаки А (22,5 %). Другие серотипы вирусов ЕСНО выделялись реже, в 2,7 % случаев выделялся энтеровирус 71.

На пяти территориях СПб РЦ в летне-осенний период 2016 г. были отмечены интенсивные сезонные подъемы заболеваемости энтеровирусной инфекцией. В Саратовской области показатель заболеваемости ЭВИ превысил среднееголетний

показатель почти в два раза и составил 4,13 на 100 тыс. населения. В Костромской области показатель заболеваемости ЭВИ в 2016 г. был превышен в 11 раз по сравнению с предыдущим годом (1,07 на 100 тыс. населения в 2015 г. и 11,77 на 100 тыс. – в 2016 г.). В Мурманской области показатель заболеваемости ЭВИ 19,3 на 100 тыс. населения был таким же высоким, как в предыдущие годы. В Ленинградской области показатель заболеваемости ЭВИ составил 6,73 на 100 тыс. населения, что в 1,8 раза выше среднееголетнего уровня заболеваемости. В Калининградской области показатель заболеваемости ЭВИ поднялся до 12,69 на 100 тыс. населения, что в 2,2 раза выше показателя 2015 г.

На всех территориях преимущественно болели дети до 17 лет (от 92,3 до 96,1 %). В Костромской области 43,2 % среди заболевших были организованные дети возрастной группы 3–6 лет, в других областях так же наблюдались очаги заболеваемости в детских дошкольных учреждениях. В Костромской области вероятным первичным фактором распространения инфекции послужило купание в открытом водоеме, так как в воде из реки Волга была обнаружена энтеровирусная РНК.

Клинические формы заболевания отличались в разных областях. Только в Саратовской области среди диагнозов превалировал ЭВМ (77 % случаев). В других областях заболевшим ставился диагноз энтеровирусная инфекция, герпангина, экзантема полости рта и конечностей, острая респираторная вирусная инфекция с нейротоксикозом, гастроэнтерит или энтеровирусная лихорадка.

Циркуляция отдельных серотипов энтеровирусов среди населения на территориях также раз-

личалась. В Саратовской и Костромской областях доминировали энтеровирусы ЕСНО30 генотипа h (64,4 и 47,3 % соответственно). В Мурманской области более половины выделенных вирусов составили энтеровирус 71 и вирусы Коксаки А6 и 10. В Ленинградской области из проб от больных в очагах ЭВИ были идентифицированы ЭВ Коксаки А6. В Калининградской области от больных выделялись вирусы Коксаки А пяти серотипов, Коксаки В1-6, вирусы ЕСНО, преимущественно ЕСНО 6 и 9.

При исследовании проб сточной воды из Костромской области были выделены два штамма ЭВ ЕСНО30 и один штамм Коксаки В1-6. Из проб сточной воды, взятых в Саратовской области, были выделены НПЭВ ЕСНО30 (2 пробы), ЕСНО3 (1 проба) и Коксаки В1-6 (3 пробы).

Таким образом, результаты вирусологических исследований, проведенных на двух территориях, свидетельствуют о наличии корреляции серотипов энтеровирусов, изолированных из материала от

больных энтеровирусной инфекцией и из проб сточной воды, в которых были обнаружены ЭВ ЕСНО 30. Эти данные подтверждают факт интенсивной циркуляции энтеровирусов ЕСНО30 на территориях Саратовской и Костромской областей во время эпидемического подъема заболеваемости энтеровирусной инфекцией.

Полученные данные подтверждают важность эпидемиологического и вирусологического надзора за энтеровирусной инфекцией. Контроль циркуляции полиовирусов и НПЭВ в окружающей среде, которая является отражением циркуляции этих вирусов среди населения, также является эффективным инструментом надзора. Систематический вирусологический надзор за больными энтеровирусной инфекцией и за объектами окружающей среды обеспечивает получение важных для Программы ликвидации полиомиелита данных о циркуляции полиовирусов и неполиомиелитных энтеровирусов среди населения и в окружающей среде.

**КАРИМОВ Д.О., КУДОЯРОВ Э.Р., КАРИМОВ Д.Д., СМОЛЯНКИН Д.А., РЕПИНА Э.Ф.,
МЫШКИН В.А., БАКИРОВ А.Б.**

АНАЛИЗ РЕПАРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ПИРИМИДИНОВ

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,
Уфа

Впервые высокая активность оксиметилурацила (5-окси-6-метилурацил, ОМУ) в качестве ингибитора процессов свободнорадикального окисления была установлена В.А. Мышкиным в 1982 г. Оксиметилурацил стимулирует иммунитет, регенераторные процессы, оказывает анаболический эффект, активизирует биоэнергетические процессы, некоторые ферменты антиоксидантной системы печени, подавляет альтерацию и экссудацию, регулирует процессы перекисного окисления липидов, стабилизирует мембраны клеток и органелл, усиливает активность АТФ-аз, является «ловушкой радикалов», защищает биоструктуры от активных форм кислорода и токсичных перекисных. Препарат обладает антиоксидантной активностью, антидотным действием, стимулирует неспецифическую резистентность организма, оказывает ноотропное, кардиопротекторное, стресс-протекторное, деметгемоглобинизирующее действие.

Однако в настоящее время в литературе отсутствуют сведения о молекулярном механизме репарационного действия оксиметилурацила на ДНК. В связи с этим, нами были проведены экспериментальные исследования с целью изучения репарационного действия препарата. Молекуляр-

ный механизм антиоксидантной активности ОМУ не установлен, однако на основании проведенных исследований предполагается, что он участвует в активации репарации ДНК клеток.

Акриламид (2-пропенамид, АА) – амид акриловой кислоты, относится к группе токсикантов класса А2. Акриламид способен связываться с белками, в т.ч. с ферментами антиоксидантной системы, что способствует развитию окислительного стресса клетки. Поражает нервную систему, почки, печень, попадая в кровоток связывается с гемоглобином.

В печени АА окисляется цитохромом СYP2E1 до эпоксида глицидамида (ГА), который в свою очередь гидролизует ферментом эпоксидгидролазой. ГА способен ковалентно связываться с ДНК. По некоторым данным именно ГА опосредует токсичность АА. Например, было показано, что СYP2E1-дефицитные мыши значительно меньше страдают от отравления АА.

В природе АА не образуется. Основным источником загрязнения окружающей среды акриламидом является деятельность человека, в частности отходы промышленности. АА также широко используется в лабораторной практике. В организм человека обычно попадает с пищей.

АА образуется при термической обработке продуктов питания как побочный продукт реакции Майра между аминокислотой аспарагина и гидроксильными группами углеводов при температуре выше 180 градусов. Основным продуктом реакции являются меланоидины, придающие характерный вкус и цвет жареным продуктам (мясо, рыба, хлеб). Еще одним источником поступления АА в организм является сигаретный дым.

В данной работе рассмотрено влияние оксиметилурацила на репаративные процессы в лейкоцитах мышей в ответ на повреждения ДНК, вызванные АА.

В эксперименте использовались белые аутбредные (беспородные) мыши массой 32–36 г. Было использовано три группы мышей, по пять особей в каждой. Затравка мышей производилась в утреннее время натощак. Первой (контрольной) группе внутривентрикулярно вводилась дистиллированная вода. Второй и третьей группам на протяжении 7 дней внутривентрикулярно вводился раствор акриламида, доза составила 15 мг/кг. Третьей группе мышей после введения раствора АА дополнительно внутривентрикулярно вводился раствор ОМУ, доза составила 50 мг/кг. Забор крови осуществлялся путем терминальной декапитации.

Клетки мононуклеарной фракции лимфоцитов периферической крови мышей выделили в градиенте фиколл-урографина (ПанЭко) (1,077 г/л).

Отмывку клеток от сыворотки производили в физиологическом растворе. Для визуализации целостности ДНК использовали метод ДНК-комет. Микропрепараты исследовали под 100-кратным увеличением на флуоресцентном микроскопе Zeiss Axio Imager.D2 с камерой Axio Cam MRc5, подключенной к компьютеру для сохранения изображений. У каждой особи мыши было проанализировано не менее 150 ДНК-комет. Оценку процентной доли (среднего содержания) ДНК в хвосте кометы проводили с использованием программы ImageJ 1.48 (Wayne Rasband). Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 6.0.

Среднее содержание ДНК в хвосте комет первой (контрольной) группы мышей составило $4,68 \pm 0,13$ %, что является ниже пороговой величины целостности ДНК (5 %). Среднее содержание ДНК в хвосте кометы у второй группы мышей составило $9,8 \pm 0,42$ %, что обусловлено внутривентрикулярным введением раствора акриламида. Содержание ДНК в хвосте комет у мышей третьей группы, получавшей наряду с акриламидом инъекции оксиметилурацила, близко к значению в группе контроля ($4,37 \pm 0,23$ %, $p > 0,05$). Различия в содержании ДНК в хвосте комет между второй и третьей группой статистически достоверны ($p < 0,001$).

Таким образом, установлено, что оксиметилурацил способствует снижению степени повреждения ДНК-токсикантом акриламидом.

КАРЦЕВ Н.Н.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕБ-РЕСУРСА «CENTER FOR GENOMIC EPIDEMIOLOGY» ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОМА *ESCHERICHIA COLI*

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора,
Оболенск

В настоящее время стоимость секвенирования бактериального генома существенно снижается, в ближайшем будущем будет уменьшаться и стоимость оборудования для секвенирования. Таким образом, в течение нескольких лет большинство клинических микробиологических лабораторий будут ежедневно использовать секвенирование в рутинной практике. Доступность секвенирования генома сделает вскоре этот метод полезным в повсеместном применении его в медицине, ветеринарии, а также во многих других отраслях, где изучаются микроорганизмы. Ограничивающим фактором для широкого применения данного метода может стать не стоимость анализа, а стандартизованные методы обработки и извлечения максимума полезной информации, необходимой для диагностики и

мониторинга, из большого количества данных, полученных после проведения секвенирования полного генома. Для получения достаточной дискриминации между изолятами обычно необходимо комбинировать результаты типирования с несколькими различными методами типирования, как фенотипическими, так и генотипическими. Для этого необходимы трудоемкие и дорогостоящие процедуры, включающие в себя эпидемиологический мониторинг за вспышками и типирование штаммов возбудителей. В последние годы наиболее популярным и востребованным методом изучения штаммов является их полногеномное секвенирование (whole genome sequencing, WGS), как в рутинной практике, так и при ретроспективных исследованиях вспышек бактериальных инфекций.

Новым ресурсом, позволяющим проводить эпидемиологическое изучение ряда актуальных бактериальных патогенов является онлайн-ресурс «Center for Genomic Epidemiology» (CGE) (www.genomicepidemiology.org). Онлайн-ресурс CGE призван решить задачу извлечения максимального количества полезной информации из большого массива данных полногеномного секвенирования в сжатые сроки, что позволяет использовать эту информацию для нужд исследователей, эпидемиологов и клиницистов. Для достижения этой цели CGE предоставляет общедоступные и удобные в использовании веб-инструменты для оперативной обработки данных WGS и извлечения соответствующей информации: поиск и идентификация генетических детерминант антибиотикорезистентности – ResFinder, ResFinderFG, KmerResistance; предсказание патогенности бактерий для человека и идентификация генов вирулентности – PathogenFinder, VirulenceFinder, SPIFinder; выявление сайтов рестрикции-модификации – Restriction-ModificationFinder; генотипирование штаммов – MLST, PlasmidFinder, pMLST, KmerFinder, spaTyper, FimTyper, MyDbFinder, MyKmerFinder, DeHumanizer; идентификация штаммов – SpeciesFinder, Reads2Type, Tapir; серотипирование – SeroTypeFinder, SeqSero; филогенетический анализ – CSIPhylogeny, NDtree, snpTree; сборка генома – Velvet Assembly, SPAdes Assembly.

Целью данного исследования было определение набора генов вирулентности и сиквенс-типа энтерогеморрагического штамма *Escherichia coli* серотипа O101:H33 с помощью онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology».

Штамм *E. coli* 13573 серотипа O101:H33 (номер в «ГКПМ-Оболensk» В-7615), выделенный во время вспышки геморрагического колита (ГК) и гемолитикоуремического синдрома (ГУС) летом 2013 г. в г. Санкт-Петербург.

Анализ генома штамма *E. coli* 13573 серотипа O101:H33 с помощью сервиса VirulenceFinder 1.5 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» позволил установить в нем наличие генетических детерминант, ответственных за продукцию факторов патогенности, таких как глутамат декарбоксилаза, система секреции третьего типа, сериновая протеаза, фактор повышенной устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови, ауто-транспортер сериновой протеазы энтеробактерий

(SPATE) интимина, энтерогемолизина, шага-токсина 2 типа, а также Non-LEE кодируемый эффектор В. Интересно, что последний из перечисленных факторов патогенности более характерен для типичных штаммов энтеропатогенных эшерихий (tEPEC). Кроме того, в геноме штамма *E. coli* 13573 серотипа O101:H33 установлено присутствие набора факторов вирулентности представителей двух патогрупп: STEC – генов *eae*, *stx2*, *ehxA* и ETEC – гена *est1a*, что указывает на гибридную природу этого штамма (STEC/EPEC). Следует отметить, что ген термостабильного энтеротоксина *est1a* в штамме *E. coli* 13573 является дефектным, так как по сравнению с референс-последовательностью гена *est1a* штамма *E. coli* EC2173 (GenBank AJ555214) он имеет делецию нуклеотида А в положении 147, приводящую к формированию стоп-кодона, а также 10 нуклеотидных замен С10Т, Т57С, Т61А, С62А, А64G, С73G, G105С, G118А, С162Т, С200Т, приводящих к аминокислотным заменам: Ser21Lys, Tre22Ala, Leu25Val, Glu35Asp, Asp40Asn, Lys49Asn, Ser50Gln, Glu51Lys и Asn52Ile. Полностью идентичная структура гена *est1a* описана у гибридного штамма STEC/EPEC IH53473 серотипа O101:H33 в работе Nyholm O. et al., 2015.

Для дальнейшей характеристики изучаемого штамма STEC 13573 был использован метод мультилокусного сиквенс-типирования (MLST). MLST-анализ штамма *E. coli* 13573 серотипа O101:H33 по схеме базы данных «MLST Databases at UoW» с использованием сервиса MLST 1.8 онлайн-ресурса CGE позволил отнести эти штаммы к сиквенс-типу ST330 (ST комплекс 10). Следует отметить, что до нашего исследования сиквенс-тип ST330 был представлен в этой базе данных всего двумя штаммами: одним STEC штаммом *E. coli* 3311 и одним гетеропатогенным UPEC штаммом *E. coli* ABU 10084/97. Как и штаммы *E. coli* серотипа O101:H33, выделенные в нашем исследовании, штамм ABU 10084/97 продуцировал шига-токсин типа 2 и интимин, но при этом являлся возбудителем инфекции мочевыводящих путей у человека. Сиквенс-тип ST330 также был определен у гибридного штамма STEC/EPEC серотипа O101:H33 в работах Nyholm O. et al., 2015.

Таким образом, веб-ресурс CGE позволяет в короткие сроки определить факторы вирулентности и сиквенс-тип изучаемого штамма, что может быть крайне важно при изучении вспышечных и спорадических случаев заболеваний эшерихиозами.

КИСЕЛЕВ Д.О. ¹, ДЖИОЕВ Ю.П. ¹, СТЕПАНЕНКО Л.А. ¹, СЕМЕНОВ А.В. ³, БАДМАЕВ А.А. ²,
БУКИН Ю.С. ⁴, ЗЛОБИН В.И. ¹

ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИВИДОВОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ДРУГИХ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ПРИБАЙКАЛЬЯ

¹ ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава РФ,
Иркутск

² ФБУЗ «Центр Гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия» Роспотребнадзора,
Улан-Удэ

³ ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет Минобрнауки РФ,
Иркутск

⁴ ФГБУН Лимнологический институт СО РАН,
Иркутск

Клещевой энцефалит (КЭ) и другие клещевые инфекции остаются актуальной проблемой медицины и биологии. Выполнено много работ, посвященных изучению генетического разнообразия и эволюционной изменчивости вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), однако до сих пор материалом подобных исследований становились коллекционные штаммы и изоляты возбудителя, накопленные за всю 80-летнюю историю изучения инфекции КЭ. Таким образом, проводимые молекулярно-эпидемиологические исследования носили ретроспективный характер и не отражают в полной мере актуального состояния природных очагов инфекции. В то же время, информация о современном состоянии природных очагов имеет важное значение в решении задач эффективной диагностики, профилактики и лечения КЭ. В проведенной работе предложен и апробирован метод прямого генотипирования ВКЭ, изолированного непосредственно от клещей-переносчиков инфекции. В ходе выполнения основной задачи исследования, также была собрана информация об актуальном состоянии природных очагов, относительно еще трех клещевых патогенов (боррелии, эрлихии, анаплазма).

Цель работы: изучение генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и распространенности других клещевых инфекций (боррелиоз, эрлихиоз, анаплазмоз) в природных очагах Байкальского региона.

Материалом исследования послужили 825 клещей *Ixodes persulcatus*, собранные в природных очагах КЭ в Иркутской области и Республи-

ке Бурятия в 2015–2017 гг. ДНК возбудителей клещевых инфекций определялась в образцах методом Real-Time PCR. Для решения задачи прямого генотипирования ВКЭ, были подобраны пары праймеров, комплементарные типоспецифическим участкам генома ВКЭ трех основных генотипов (дальневосточного, сибирского и западного), а также штаммов группы 886-84. Проводилась классическая ПЦР с детекцией результатов амплификации методом электрофореза в агарозном геле.

В результате проведенной работы была собрана информация об актуальном состоянии природных очагов клещевых инфекций в Иркутской области (Иркутский, Ангарский и Слюдянский районы) и Республики Бурятия (Тункинский, Джидинский, Закаменский, Кяхтинский, Курумканский и Баргузинский районы) по четырем патогенам (ВКЭ, боррелии, эрлихии, анаплазма).

Были успешно апробированы специфические пары праймеров для трех генотипов ВКЭ и группы штаммов 886-84. В изучаемых регионах обнаружены представители ВКЭ сибирского, дальневосточного и западного генотипов и предпринята их количественная оценка.

Полученная с помощью предлагаемого метода прямого генотипирования ВКЭ информация о современном внутривидовом генетическом разнообразии возбудителя в природных очагах Прибайкалья, а также информация о других клещевых патогенах, может быть использована в дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследованиях обозначенных инфекций.

ВЛИЯНИЕ ОБРАЗА ЖИЗНИ НА РАЗВИТИЕ ОЖИРЕНИЯ СРЕДИ ВОДИТЕЛЕЙ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»,
Москва

С каждым годом растет количество людей, имеющих избыточную массу тела, а также страдающих ожирением. В связи с изменением образа жизни, снижением физической активности, данная проблема становится все более актуальной. Нарушения углеводного и липидного обмена, наряду с артериальной гипертензией, малоподвижным образом жизни, ожирением и нерациональным питанием, стрессом являются основными факторами развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений. В итоге, риск развития ожирения зависит как от производственной среды, так и от особенностей образа жизни работника.

Среди работников различных профессиональных групп встречается значительное распространение ожирения. Анализ литературных данных формирует представление о взаимосвязи недостатка сна и ожирения, как о сложной многофакторной системе, включающей в себя такие явления, как профессиональный стресс и гиподинамия. Так, замена 8-часовых рабочих смен на 12-часовые у операторов электронных производств достоверно вызывала увеличение индекса массы тела (ИМТ) и увеличение риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Сама по себе длительность рабочей смены в 12 часов и более, при условии сидячей работы и недостаточных физических нагрузок, при длительных периодах повторяющихся ночных смен, ведет к увеличению ИМТ и развитию ожирения, вплоть до морбидного. Также имеются данные об увеличении частоты возникновения метаболического синдрома у работников в сходных профессиональных условиях. Согласно исследованиям, проведенным в крупных японских компаниях, риск развития ожирения в 1,3 раза выше у лиц с продолжительностью сна 5 и менее часов, по сравнению с теми, кто спит более 7 часов. Авторы отмечают преимущественное влияние поведенческих факторов, таких как предпочтение наиболее калорийных (жирных, сладких) продуктов, «эмоциональная», «безудержная» еда. Подобные нарушения сна могут вызывать явления обратной связи по типу «замкнутого круга», при которых плохой сон и его недостаток тесно связаны с нарушениями самочувствия, вследствие которых качество сна снижается еще сильнее. В первую очередь речь идет о возникновении стресса и тревожности, нарастающих в условиях дефицита сна и высокой напряженности труда. Вероятность развития синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) в 8–12 раз выше у людей, страдающих ожирением (ИМТ > 29).

Отрицательный эффект СОАС выражается в жалобах на прерывистый ночной сон, ощущение снижения качества сна и сонливость в дневное время. В большинстве случаев это состояние ассоциировано с жалобами на храп во время сна, в той или иной мере наблюдаемый у 30 % взрослого населения.

Нами было проведено поперечное эпидемиологическое исследование группы профессиональных водителей (163 человека), занятых сменной работой. Исследование включало анкетирование работников, которое содержало вопросы, касающиеся субъективной качественной и количественной оценки сна (выраженность сонливости вследствие бессонной ночи (Stanford Sleepiness Scale – SSS); субъективное ранговое ощущение своего сонливого состояния (Karolinska Sleepiness Scale – KSS). У водителей была проведена объективная количественная оценка сна методом актографии. Программа исследования включала расчет индекса массы тела на основании роста и массы тела, измерение артериального давления. Для субъективной оценки профессиональными водителями условий труда, образа жизни и состояния здоровья была разработана специальная анкета.

Данные субъективного социологического опроса показали, что 62 % водителей спят 8–9 ч и 36 % – 6–7 ч. Однако данные выборочного объективного контроля с помощью актографии не подтвердили эти показатели (водители считают время сна с момента нахождения в кровати, а не часы реального сна). По данным актографического исследования реальное время сна у половины водителей не превышает 6 часов, что согласно субъективной оценке водителей степени собственного утомления недостаточно для полного восстановления работоспособности и может привести к хроническому недосыпанию в течение целой вахты.

Водители, которые спят в дневное время, просыпаются в 2 раза чаще. У них отмечается снижение продолжительности фазы глубокого сна по сравнению с физиологической нормой. Таким образом, проведенные объективные исследования, показали, что времени сна для водителей дневной и ночной смены недостаточно.

25 % водителей по данным анкетного опроса выходят на работу не выспавшимися, 29 % водителей имеют беспокойный сон, 46 % водителей просыпаются уставшими, 69 % водителей как дневной, так и ночной смены просыпаются в течение ночи. Хроническое недосыпание на протяжении всей вахты неизбежно ведет к развитию сонливости и усталости у работника.

93 % водителей отмечают, что правильное питание и здоровый образ жизни положительно влияют на качество сна, однако 61 % не занимается спортом, и только 18 % водителей занимаются 1–2 раза в неделю, из них 50 % водителей – до 35 лет. Также 61 % водителей ответили, что не занимаются спортом, тогда как лишь 3 % делают это на постоянной основе, а остальные занимаются спортом лишь время от времени.

Более трети (37,9 %) опрошенных водителей страдают избыточной массой тела, а 16,7 % – ожирением I степени. Это может быть связано как с малоподвижной работой, так и неосведомленностью работников о правилах здорового питания, перееданием. По данным российских исследований, не менее 30 % трудоспособного населения нашей страны имеют избыточную массу тела и 25 % – ожирение, что не противоречит полученным данным. Также ожирению, как правило, сопутствует храп: около 62 % опрошенных утвердительно ответили на вопрос о том, храпят ли они во сне. Это состояние крайне негативно влияет на качество сна, вызывая ощущение усталости и сонливости во время последующей рабочей смены. 29 % обследованных водителей страдают беспокойным сном, около 46 % отмечают, что время от времени просыпаются уставшими. Это может быть связано как с бытовыми условиями, не располагающими к здоровому сну, так и с обозначенными особенностями здоровья опрошенных.

По данным анкетного опроса была проведена оценка состояния здоровья водителей, анализировались вредные привычки и образ жизни. Большинство опрошенных (88,4 %) за последний год не переносили острых заболеваний и не обращались к врачу, небольшое количество водителей обращалось за медицинской помощью хотя бы раз (4,9 %) или до 3 раз (4,3 %). Количество болевших более 3 раз за год составило менее 1 %. Также 94,5 % обследованных отрицают наличие у себя хронических заболеваний. Это может говорить о сравнительно высоких показателях здоровья среди данной профессиональной группы.

Более 29 % водителей выходили на работу в невыспавшемся состоянии и в случае недомогания. Сниженную работоспособность отмечают более 35 % водителей, повышенную утомляемость – 48 % водителей, более трети водителей устает к концу смены. Не занимаются физической культурой или спортом 61 % водителей; курят 66 % водителей, злоупотребляют алкоголем в межвахтовый период – 35 %.

Анализ вредных привычек показал, что 66 % водителей курят, что в 1,5–2 раза больше, чем в среднем по России (37–39 % курящих по данным Росстата). Треть опрошенных (34,8 %) курит более 1 пачки в день.

Таким образом, на фоне относительно невысокой заболеваемости, более чем у половины водителей наблюдается склонность к ожирению, либо уже сформировавшееся ожирение I степени. Также, 42 % опрошенных отмечают, что хотя бы время от времени страдают головными болями. Наряду с низкой физической активностью, отсутствием привычки к спортивным занятиям, а также большой долей лиц, злоупотребляющих курением, это относит профессиональных водителей к группе риска развития острых и хронических заболеваний, в первую очередь патологии сердечно-сосудистой системы.

Проведенное исследование выявило наличие недостатка сна, физической активности и наличие вредных привычек у половины водителей, что ведет к недостаточному восстановлению работоспособности к началу следующей смены и высокую распространенность избыточной массы тела и ожирения.

Для предотвращения распространения ожирения в профессиональных группах работников, подверженных таким факторам как сменная работа с чередованием дневных и ночных смен, высокий уровень профессионального стресса, низкая физическая активность, наличие вредных привычек требуется внедрение не только специфических мер по борьбе с ожирением (организация рационального питания, физическая культура), но и обеспечение достаточного количества и качества сна.

КОРЫТОВ К.М. ¹, ВОЙТКОВА В.В. ¹, ДУБРОВИНА В.И. ¹, ТЫГАЗОВА С.Л. ²,
БАЛАХОНОВ С.В. ¹

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ЛЮДЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЧУМЫ И ПРОЖИВАЮЩИХ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

¹ Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, Горно-Алтайск

Чума – опасное природно-очаговое бактериальное заболевание, возбудителем которого является *Yersinia pestis*, уносившее в прошлом сотни тысяч человеческих жизней. Однако и по

сей день, эта болезнь представляет для людей большую угрозу.

В настоящее время самым активным в Российской Федерации, как в эпизоотологическом, так и в эпидемиологическом отношении, является Горно-Алтайский высокогорный природный очаг, расположенный на территории Республики Алтай. Так, за 2014–2016 гг. в этом районе зарегистрировано 3 случая заболевания местных жителей бубонной формой чумы. Данное обстоятельство послужило причиной проведения комплекса профилактических мероприятий, включающих массовый охват населения, проживающего на данной территории, иммунизацией отечественной коммерческой живой чумной вакциной (ЖЧВ) производства ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Поскольку проведение подобной специфической профилактики ЖЧВ предполагает изучение ее иммунологической эффективности, целью настоящей работы явилась оценка состояния показателей гуморального иммунитета у вакцинированных (ревакцинированных) против чумы людей, постоянно проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016–2017 гг.

В исследовании приняли участие 60 добровольцев, ранее не вакцинированных против чумы и проживающих в селе Кош-Агач. Забор клинического материала (кровь) от людей проводили до проведения вакцинации ЖЧВ, через 1 и 6 месяцев после, а также через 1 год до проведения повторной вакцинации (ревакцинации) и через 1, 3 и 6 месяцев спустя.

Исследование включало определение титров специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микроба и концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и общего IgE) в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) и ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) соответственно, согласно инструкциям производителя.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия Уилкоксона для зависимых переменных в программе статистика «Statistica». Достоверными различия считали при уровне значимости $p < 0,05$.

Показано, что у 91 % вакцинированных развивалась положительная сероконверсия через месяц после проведения иммунизации, но уже через 6 месяцев защитные титры антител значительно снижались и не превышали диагностического уровня. Аналогичная картина наблюдалась и через 12 месяцев после иммунизации ЖЧВ. Спустя один месяц после ревакцинации в 16 %, а через 3 месяца – в 76 % случаев титры специфических IgG к капсульному антигену чумного микроба превышали уровни диагностического. У более 39 % ревакцинированных защитные титры сохранились и спустя полгода после ревакцинации.

При анализе основных классов иммуноглобулинов установлено статистически значимое повышение концентрации общего IgE через 1, 6 и 12 месяцев после проведения вакцинации и 1 месяц после ревакцинации по сравнению со значениями данного показателя до проведения специфической профилактики. Кроме того, уровни IgM и IgA через 1 месяц после вакцинации людей против чумы тоже были достоверно выше, но статистически значимо снижались к 6 месяцу после проведения вакцинации. Имело место достоверное снижение концентрации IgG через полгода после проведения прививки. Последующие измерения этих параметров не показали достоверных различий в сравниваемых группах. Все выявленные изменения концентраций основных классов иммуноглобулинов варьировали в пределах референсных значений.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об активации звеньев гуморального иммунитета и адекватной иммунной перестройке организма людей, иммунизированных против чумы. Тем не менее, для полноценной характеристики иммунологической реактивности людей, вакцинированных (ревакцинированных) ЖЧВ, требуется дальнейшее всестороннее изучение.

**КОСТЮЧЕНКО М.В., ПОНОМАРЕНКО Д.Г., РАКИТИНА Е.Л., ЛОГВИНЕНКО О.В.,
РУСАНОВА Д.В.**

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА АНТИГЕНРЕАКТИВНОСТИ КЛЕТОК IN VITRO ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЕЗА

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Бруцеллез – наиболее актуальная опасная зоонозная инфекция в регионах с развитым животноводством. Инфекция характеризуется много-

образием клинических признаков и форм, высоким риском хронизации и инвалидизации больных. Низкая информативность результатов рутинного

общеклинического лабораторного обследования при бруцеллезе, нередко приводит к диагностическим ошибкам на догоспитальном этапе. Также, следует отметить ограниченные диагностические возможности, традиционно используемых методов бактериологической, серологической диагностики и молекулярно-генетических исследований.

Совершенствование комплекса лабораторной диагностики бруцеллезной инфекции требует разработки современных дополнительных методов верификации, основанных на клеточных факторах иммунитета, как ведущих в иммуногенезе и патогенезе бруцеллеза.

В настоящее время в лабораторную практику внедрена технология проточной цитофлуориметрии, которая обладает рядом неоспоримых преимуществ – высокая точность, воспроизводимость измерений, надежность и достоверность результатов, возможность анализировать минимальные концентрации клеток и растворенных аналитов в образце, высокая скорость проведения анализа, применение компьютерной техники при регистрации, обработке, накоплении и хранении информации, обеспечение внутреннего и внешнего лабораторного контроля качества исследований.

По данным исследователей перспективными показателями специфической клеточной антигенреактивности могут выступать следующие маркеры активации лимфоцитов: CD25 – высокоаффинный рецептор интерлейкина 2 (IL-2R α), маркер ранней активации Т-лимфоцитов; HLA-DR – антиген МНС класса II, экспрессия маркера ассоциирована не только с поздней, но и длительной активацией лимфоцитов; CD95 (Fas, APO-1) – рецептор индукции апоптоза («клеточной смерти»), маркер «поздней» активации (представлен преимущественно CD4 $^{+}$ лимфоцитах) и Fas L (CD178) – рецептор индукции апоптоза, экспрессируется в основном на CD8 $^{+}$ клетках.

Цель работы – оценить возможность и перспективность применения технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики бруцеллеза.

Материалы и методы исследования. Обследовали 35 человек с диагнозом «острый бруцеллез» и 12 человек – не больных, не переболевших бруцеллезом, не вакцинированных против бруцеллеза (контрольная группа).

Исследования проводили с помощью проточного цитометра (FACS Calibur, США), используя МКАт (Beckman Coulter, США). Определяли количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CD25, HLA-DR, CD95, CD95L (CD178) при активации специфическим антигеном. Постановку реакции для выявления маркеров активации лимфоцитов *in vitro* осуществляли в течение 24 ч после взятия крови, по авторской методике. В качестве специфического антигена использовали бруцеллин (ФГУП «НПО Микроген», Россия), для выявления

уровня спонтанной активации использовали стерильный 0,9%-ный раствор NaCl (далее – физ. раствор). Все работы с клиническим материалом от больных острым бруцеллезом проводили в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием пакета компьютерных программ Microsoft Excel. Достоверность различия средних рассчитывали по критерию Стьюдента (t), уровень значимости p выбран менее 0,05.

При анализе интенсивности экспрессии рецептора IL-2R α лимфоцитами установлено, что у обследуемых контрольной группы фоновые (без активации) значения в среднем составляли $10,42 \pm 1,19$ %, при активации физ. раствором – $11,12 \pm 1,15$ %, бруцеллином – $12,41 \pm 0,98$ %. В группе больных бруцеллезом уровень CD25 $^{+}$ -лимфоцитов, без активации, составил в среднем $14,71 \pm 1,02$ %, при инкубации с физ. раствором – $13,28 \pm 0,99$ %. При стимуляции бруцеллином установлено статистически значимое увеличение значения исследуемого показателя, в сравнении с фоном и при активации физ. раствором до $17,81 \pm 1,16$ % ($p \leq 0,05$). Увеличение интенсивности экспрессии лимфоцитами CD25, более чем на 10 % от фоновых (исходных) значений, выявлено у 74,3 % (26 чел.) обследуемых больных.

Оценка уровня экспрессии маркера поздней активации лимфоцитов – HLA-DR – показала, что в контрольной группе фоновые значения составили в среднем $24,93 \pm 2,27$ %, при активации физ. раствором – $25,53 \pm 2,40$ %, бруцеллином – $25,90 \pm 2,49$ %. В группе больных острым бруцеллезом фоновые значения интенсивности экспрессии антигена HLA-DR составили $34,12 \pm 3,02$ %, при стимуляции физ. раствором – $35,74 \pm 2,23$ %, бруцеллином – $41,33 \pm 2,28$ %. Повышение уровня экспрессии маркеров «поздней активации» более чем на 10 % установлено у 54,3 % (19 чел.) больных бруцеллезом.

Анализ активности экспрессии рецептора индукции апоптоза – CD95 позволил установить, что у обследуемых контрольной группы фоновое количество CD95-позитивных лимфоцитов в среднем составило $10,11 \pm 0,71$ %, при инкубации с физ. раствором – $9,72 \pm 0,50$ %, с бруцеллином – $10,04 \pm 0,56$ %. У больных бруцеллезом исследуемый показатель (фоновое значение) составил $22,51 \pm 2,03$ %, при активации физ. раствором $23,76 \pm 1,61$ %. При инкубации лимфоцитов с бруцеллином уровень CD95 $^{+}$ -лимфоцитов статистически значимо увеличился в среднем до $30,62 \pm 1,60$ % ($p \leq 0,01$), при этом повышение уровня экспрессии «рецептора смерти», более чем на 10 %, зафиксировано у 77,14 % (27 чел.) обследуемых с острым бруцеллезом.

Исследования интенсивности экспрессии рецептора CD178 показали, что в контрольной группе фоновый уровень CD178⁺-лимфоцитов в крови составил в среднем $0,65 \pm 0,07$ %, при активации физ. раствором – $0,51 \pm 0,03$ %, бруцеллином – $0,61 \pm 0,04$ %. В группе больных острым бруцеллезом фоновое количество CD178-позитивных лимфоцитов составило в среднем $1,15 \pm 0,17$ %, при стимуляции клеток физ. раствором – $1,18 \pm 0,14$ %. При активации лимфоцитов бруцеллином количество лимфоцитов экспрессирующих CD178 статистически достоверно увеличилось в среднем до $2,20 \pm 0,21$ % ($p \leq 0,05$). Также установлено, что у 85,7 % (30 чел.) больных острым бруцеллезом,

повышение интенсивности экспрессии CD178 наблюдалось более чем на 10 %.

Таким образом, проведенные исследования указывают на возможность и реальную перспективу использования технологии проточной цитофлуориметрии и клеточных тестов *in vitro* для диагностики бруцеллеза.

Установлено, что интенсивность антиген-стимулированной активации лимфоцитов *in vitro*, можно использовать в качестве маркера острой бруцеллезной инфекции у человека. Наиболее перспективными показателями активации лимфоцитов *in vitro*, можно считать рецепторы к IL-2 (CD25) и маркеры апоптоза – CD95, CD95L (CD178).

КОТЕНЕВА Е.А.

ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В РАБОТЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзор,
Ставрополь

Масс-спектрометрия является физико-химическим методом анализа, заключающимся в переводе молекул образца в ионизированную форму с последующим разделением и регистрацией образующихся при этом положительных или отрицательных ионов. Масс-спектр позволяет сделать выводы о молекулярной массе соединения, его составе и структуре.

Одним из наиболее востребованных у исследователей в области микробиологии, биохимии и фармакологии стал метод MALDI-ToF MS (времяпролетной масс-спектрометрии с матрично ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией) (Murray K.K. et al., 2013). В основе метода MALDI-ToF MS лежит мягкая ионизация молекул, позволяющая переводить сложные органические соединения в газовую фазу без их деструкции. Благодаря этому, за последнее десятилетие MALDI-ToF масс-спектрометрия стала универсальным инструментом анализа сложных биологических макромолекул, таких как белки и нуклеиновые кислоты. MALDI-ToF MS отличается высокой точностью и скоростью проведения анализа, низкой стоимостью реактивов и расходных материалов и возможностью автоматизации анализа, что важно как в исследовательских работах, так и в рутинной практике работы клинических и бактериологических лабораторий (Демидов Е.А. и др., 2013; Mellmann A. et al., 2009; Ghyselinck J. et al., 2011; Clark A. et al., 2013; Panda A. et al., 2015). Данный метод позволяет проводить прямой масс-спектрометрический

анализ белковой фракции микробной клетки (т.е. прямое белковое профилирование) и получать уникальные для каждого вида масс-спектры (Van Veen S., 2010). Для идентификации необходима база данных эталонных спектров, представляющих собой суперспектры (усредненные серии единичных спектров), что позволяет добиться большой точности и воспроизводимости анализа. Принцип анализа с использованием ПО BioTyper (Bruker Daltonik GmbH) основан на сопоставлении масс-спектров рибосомальных белков, которые являются консервативными и видоспецифичными и, кроме того, присутствуют в большом количестве во всех микробных клетках, а их набор остается неизменным вне зависимости от условий и стадии роста, что обеспечивает воспроизводимость масс-спектров. Для идентификации используют спектры в диапазоне масс 2–20 Да. Метод идентификации и дифференциации микроорганизмов с использованием рибосомальных белков и генов 16S РНК активно применяется в молекулярной микробиологии и эпидемиологии (Cole J.R. et al., 2009; Srinivasan R. et al., 2015). Коммерчески доступные в настоящее время базы данных содержат информацию о более чем 5000 видах микроорганизмов, патогенных для человека или животных, что позволяет с высокой степенью достоверности идентифицировать возбудителя и назначить своевременное и адекватное лечение. Плащечный формат анализа (мишень на 96 или 384 образца) и универсальный протокол экстракции позволяют

провести анализ за очень короткое время (в течение 1 ч с момента начала исследования). Следует отметить, что в настоящее время в мировой практике наблюдается тенденция перехода от идентификации выделенных культур микроорганизмов к исследованию непосредственно клинических образцов (плазма, сыроворотка, моча, биопсийный материал) или гемокультур, что делает схему исследования более простой и информативной, убирая много лишних этапов (Ferreira L. et al., 2010; Burillo A. et al., 2014; Guembe M. et al., 2014; Segawa S. et al., 2014). Идентификация микроорганизмов в биологическом материале может быть проведена двумя способами: выявление специфического белкового профиля или детекция специфических низкомолекулярных соединений, которые являются маркерами определенных заболеваний (Kozar M. et al., 2000; Ferrnando R. et al., 2001). Одним из вариантов масс-спектрометрической идентификации патогенов, успешно применяемой в настоящее время, является метод масс-спектрометрической идентификации интактных клеток (ICMS) (Heller D. et al., 1987; Fenselau C. et al., 2001; Kok J. et al., 2011). Как показано в обзоре (Kok J. et al., 2011) современные масс-спектрометры и специализированное программное обеспечение позволяют проводить достоверную идентификацию микроорганизма до вида более чем в 90 % случаев при работе с клиническими образцами, в том числе и при микст-инфекциях. Еще одним ключевым направлением, актуальным в настоящее время является MALDI-ToF MS идентификация возбудителей и переносчиков природно-очаговых инфекций (Kaufmann C. et al., 2011; Karger A. et al., 2012; Yssouf A. et al., 2013) и, в том числе, с использованием технологии ICMS. Ряд исследователей сообщают об использовании метода MALDI-ToF MS для видовой идентификации комаров (Kaufmann C. et al., 2012), москитов (Muller P. et al., 2013), блох (Dvorak V. et al., 2015; Yssouf A. et al., 2015). В работе

(Yssouf A. et al., 2015a) описывается опыт успешной одновременной видовой идентификации методом времяпролетной масс-спектрометрии клещей видов *D. marginatus*, *H. marginatum*, *Rh. bursa* и возбудителей клещевых пятнистых лихорадок (*Rickettsia ssp.*). Так же метод времяпролетной масс-спектрометрии используется для выявления возбудителя боррелиоза непосредственно в клещах (Fotso-Fotso A. et al., 2014).

Успешно развивается направление, связанное с определением антибиотикочувствительности и антибиотикорезистентности с использованием масс-спектрометрии (Wolters M. et al., 2011). Описано и активно применяется в лабораторной практике определение резистентности к β -лактамам антибиотикам с использованием специального протокола «mass spectrometric β -lactamase (MSBL) assay». Суть этого метода заключается в кратковременном инкубировании бактериальной культуры с раствором антибиотика заданной концентрации, в результате чего, при наличии резистентности происходит гидролиз β -лактамного кольца. Такая измененная молекула легко идентифицируется на MALDI-ToF масс-спектрометре по смещению молекулярной массы. Анализ занимает несколько часов, что выгодно отличает его от других (бактериологических и биохимических) тестов на антибиотикочувствительность (Johansson A. et al., 2014; Sparbier K. et al., 2012a). Аналогичный методологический подход реализован при детекции резистентности к аминогликозидам (Hart P.J., 2015).

Таким образом, в настоящее время масс-спектрометрический анализ все более активно внедряется в рутинную практику работы бактериологических и клинических лабораторий разного уровня. Благодаря автоматизации, низкой стоимости анализа, скорости выполнения он может стать дополнением или достойной альтернативой применяемым в настоящее время методам.

КОТЕНЕВА Е.А., КАЛИНИН А.В., ЦЫГАНКОВА О.И.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ MALDI-TOF MS ТЕХНОЛОГИИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Быстрая и точная идентификация патогенных микроорганизмов является актуальной задачей для многих направлений медицинской микробиологии как научного, так и прикладного характера, важное место среди которых занимает выявление особо опасных патогенов в целях эпидемиологиче-

ского надзора, а также противодействия угрозам биотерроризма. В настоящее время основными методами идентификации микроорганизмов являются бактериологические, серологические и молекулярно-генетические методы – секвенирование отдельных специфических фрагментов, ПЦР,

микрочиповые технологии. Однако действительно революционным прорывом в видовой идентификации микроорганизмов стало развитие и внедрение в практику медицинских и санитарно-эпидемиологических учреждений метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией ионизацией (MALDI-ToF MS).

Получение референсных белковых профилей фенотипически отличающихся штаммов ПБА I-II групп патогенности, в том числе сибиреязвенного микроба, позволит использовать MALDI-ToF MS не только для быстрой идентификации до вида, но и в ряде случаев проводить внутривидовое типирование микроорганизмов до уровня подвида или биовара.

Возбудитель сибирской язвы, *Bacillus anthracis*, характеризуется определенным набором типичных для данного вида фенотипических и биохимических признаков, которые служат основой для идентификации выделенных штаммов и их дифференциации от близкородственных представителей рода *Bacillus*. Тем не менее, у сибиреязвенного микроба отмечается значительный внутривидовой полиморфизм ряда важных дифференцирующих признаков: способность к капсулообразованию на воздухе, токсинообразование *in vitro*, гемолитическая, протеолитическая и лецитиназная активность, аутокотрофность по некоторым аминокислотам, чувствительность к сибиреязвенным бактериофагам (Еременко Е.И., 1997; Цыганкова О.И., 2007).

Цель работы – оценка возможности внутривидовой дифференциации методом MALDI-ToF штаммов *B. anthracis* с различными комплексами основных фенотипических характеристик.

В работе было использовано 36 штаммов *B. anthracis* из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт. Среди исследованных штаммов были природные штаммы с комплексом типичных фенотипических и биохимических характеристик, атипичные по ряду свойств природные штаммы и селекционированные в лаборатории по определенным признакам варианты, относящиеся к нескольким изогенным группам. Все исследованные штаммы были разделены на 11 фенотипических вариантов, учитывающих следующие характеристики в разных комбинациях: способность к капсулообразованию на воздухе и в атмосфере с повышенным содержанием CO₂, продукция токсина *in vitro*, протеолитическая, гемолитическая и лецитиназная активность, аутокотрофность по триптофану. Для получения белковых экстрактов штаммы *B. anthracis* предварительно выращивали на LB агаре (по Ленноксу) при 37 °C в течение 24 ч. Получение белковых экстрактов и обеззараживание культур микроорганизмов рода *Bacillus* проводили по методу кислотной экстракции 80 % ТФУ, описанному P. Lasch с соавт., с последующей стерилизующей фильтрацией через PVDF

фильтром с диаметром пор 0,22 мкм. Все работы с культурами *B. anthracis* проводили в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Для проведения исследований использовали времяпролетный масс-спектрометр Microflex LT (Bruker, Германия). Способ ионизации – матрично-активированная лазерная десорбция ионизация с линейным режимом положительных ионов. Образцы в объеме 1 мкл наносили на поверхность 96-луночного MSP планшета, и после полного высыхания на каждый образец наносили равный объем матрицы – насыщенной α-гидроксикоричной кислоты (CHCA). Нами были подобраны параметры получения референсных масс-спектров штаммов *B. anthracis*: детектируемый диапазон масс 2–25 кДа, частота лазера – 60 Гц, количество суммарных спектров – 40, количество спектров для создания библиотеки MSP – 20, мощность лазера – 30–40 %. Для калибровки использовали Bacterial Test Std. Полученные масс-спектры накапливали и собирали в индивидуальный суперспектр данного штамма. Создание суперспектра проводили из 20 единичных масс-спектров в программе MALDI Biotyper v. 3.0. по стандартному алгоритму.

Одним из интересных результатов нашей работы было то, что для части штаммов – SM (образующие капсулу в атмосфере воздуха) и RO вариантов (Маринин А.В. с соавт., 1999) спектры были получены только с использованием технологии Anchor Chip, который позволяет сконцентрировать образец что, по всей видимости, связано со структурными особенностями поверхностных структур клетки. При анализе дендрограммы, построенной на основе MSP-спектров и отражающей степень родства штаммов на основе сходства белковых профилей, все исследованные штаммы делятся на ряд крупных ветвей 1 и 2-го порядка. Ветвь А достаточно разнородна по фенотипическим свойствам входящих в нее штаммов, сюда входят в основном типичные штаммы, а также несколько фенотипически не проявляющих продукцию токсина штаммов, в том числе, полностью атоксигенные. Такие штаммы нуждаются в более детальном изучении популяции на предмет возможного выделения культуральных вариантов. Четко прослеживается корреляция и родство фенотипов RO вариантов вакцинных штаммов СТИ и 228/8 и штаммов в SM форме, способных к капсулообразованию на воздухе, которые на дендрограмме образуют единую ветвь с более мелким ветвлением, в рамках которой RO варианты формируют собственную подгруппу, так как они были выделены по признаку ярко выраженной гемолитической и лецитиназной активности и специфической морфологии колоний. Большую группу в рамках данной ветви образуют штаммы, атипичные по токсинопродукции и протеолитической активности, все эти штаммы объединяет фенотипическое отсутствие

токсинообразования, хотя только часть из них лишена плазмиды pXO1.

Таким образом, выявлена связь между особенностями белкового профиля штаммов и его фенотипическими характеристиками, что по-

зволит в дальнейшем усовершенствовать масс-спектрометрический метод идентификации сибирезванного микроба и проводить внутривидовую дифференциацию штаммов *B. anthracis* с учетом их фенотипических особенностей.

КОШУРНИКОВ Д.Н., БАЛАШОВ С.Ю., БУХАРИНОВ А.А.

ГЕОИНФОРМАЦИОННЫЕ СИСТЕМЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕХНОГЕННОГО ШУМА ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ В УСЛОВИЯХ ПЛОТНОЙ ГОРОДСКОЙ ЗАСТРОЙКИ

ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь

Существующие подходы по выявлению, оценке и интерпретации результатов гигиенической оценки условий проживания населения по шумовому фактору, особенно в условиях антропогенной нагрузки, носят выборочный характер и не отражают комплексный подход, позволяющий принять комплексные решения и сформулировать стратегию развития территории. Так, в Государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году» приведена структура исследований физических факторов неионизирующей природы, в рамках которой шум составил всего 6,8 %, тогда как значительные жилые территории крупных городов Российской Федерации находятся в зонах акустического дискомфорта.

В сложившейся ситуации наиболее оптимальным представляется управление процессом воздействия шумового фактора на основе ситуационного и имитационного моделирования, основанного на существующих и специальных исследованиях, а также на основе расчетных уровней, контролируемых с использованием математического аппарата.

Моделирование процесса распространения шума позволяет не только установить уровень шума в приземном слое на уровне слышимости человеком, но и установить закономерности распределения звуковых волн на других высотах проживания населения. Оптимальным методом оценки акустической экспозиции населения в условиях сложившейся плотной городской застройки является трехмерное или 3D – моделирование распространения шума.

Следует отметить, что на сегодняшний день практически во всех отраслях промышленности и направлениях науки существуют опытные образцы математических моделей по воплощению реальных процессов в трехмерном пространстве. Воздействие физических факторов в части распространения шума не осталось без внимания.

Целью исследования являлась расчетная оценка шумовой экспозиции на территории крупного промышленного города. Объектом исследования являлась территория г. Перми – крупного промышленного центра с интенсивной автотранспортной нагрузкой.

В ходе выполнения работы был использован комплекс пространственно-временных методов анализа, геоинформационные подходы, статистические методы обработки информации, методы системного анализа и ситуационного моделирования.

Были собраны данные о стационарных и передвижных источниках транспортного шума на территории г. Перми (более 1300 линейных участков УДС), были подготовлены и оцифрованы более 134 000 объектов экранирования в виде зданий и сооружений капитального строительства, расположенных на территории г. Перми.

Структура моделирования практически полностью дублирует алгоритм создания и ведения шумовой карты поселения, которая отражает как географическое представление данных о расположении отдельных объектов, распределении транспортных потоков, но и непосредственно распределении шумового фактора на поселении.

Огромную роль в существующих возможностях моделирования играют программные продукты по моделированию акустической ситуации, которые позволяют не только рассчитывать уровень шума, но и характеризовать рассматриваемую территорию оценки с целью:

- интегрирования имеющихся инженерных сооружений в существующую картину рельефа (транспортные переходы, мосты, тоннели, виадуки и др.);
- описания рельефа местности (возвышенности, низменности, холмы, горы и др.);
- описания имеющихся инженерных сетей (ЛЭП, дороги и др.);
- визуализации зданий и сооружений, выступающих в качестве препятствий, отражающих и поглощающих звуковые волны;

– учет высотной отметки расположения источников шумового воздействия (что невозможно визуально оценить в двухмерной модели).

На основании собранных исходных данных была сформирована электронная база данных по источникам шумового воздействия в специализированном программном продукте «Эколог-Шум» (вер. 2.3), реализующем ГОСТ 31295.1-2005 и СП 51.13330.2011.

Для моделирования ситуации были заданы порядка 27 000 расчетных точек в границах расчетного прямоугольника на территории г. Перми на разных высотах расчетной площадки: 1,5; 3; 5; 7; 9; 11; 13; 15 метров от уровня земли.

В качестве технического обеспечения проводимых исследований и визуализации полученных результатов использовались геоинформационные системы (программный комплекс ArcView 9.3.). В программе была проведена трехмерная визуализация территории г. Перми с проведением акустических расчетов в программе «Эколог-Шум» (вер. 2.3).

По результатам комплексных расчетов были установлены территории акустической тишины и территории акустического дискомфорта с применением установленных гигиенических критериев для Российской Федерации.

Анализ полученной картины шумового загрязнения города показал формирование значительной селитебной территории (более 60 %), находящейся в зонах акустического дискомфорта. Для отдельных территорий селитебной застройки под воздействие уровни шума достигали 75 дБА. Было установлено, что в целом в центральной части города в зонах акустического дискомфорта проживает около 200 000 человек.

Данные результаты свидетельствуют о нарушении прав граждан на благоприятную среду обитания, что является нарушением п. 1 ст. 42 Конституции Российской Федерации, ст. 8, 11 ФЗ № 52 от 30.03.1999 г. «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», ст. 30 ФЗ № 96 от 04.05.1999 г. «Об охране атмосферного воздуха» и раздела 4 СанПиН 2.1.6.1032-01 «Гигиенические требования к обеспечению качества атмосферного воздуха населенных мест» и требуют разработки и реализации плановых и внеплановых санитарно-гигиенических, технологических и медико-профилактических мероприятий на исследованной территории.

Используя подходы трехмерного моделирования, полученные результаты позволяют оценить акустическую ситуацию в пространстве на территории, с выявлением закономерностей, принятием персонафицированных мер по ограничению или снижению шумового воздействия.

Таким образом, проведенные исследования обосновывают необходимость оценки шумового воздействия в крупных мегаполисах и промышленно развитых регионах с применением 3D-моделей. Полученные результаты позволяют провести комплексный анализ территории без применения дополнительных исследований и рассмотреть возможность внедрения шумозащитных мероприятий. Применение трехмерного моделирования позволит оптимизировать работы по санитарно-гигиенической оценке селитебных территорий, выполнить стратегическое планирование развития городских поселений, в том числе и по шумовому фактору, а также позволит иметь актуальную картину воздействия шума с возможностью последующей регулярной актуализацией с минимальной затратой материальных и трудовых ресурсов.

КРЫЛОВА И.В., ПОТАПОВА И.А.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВИТАМИНА К1 В РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОДУКТАХ С ЦЕЛЬЮ СНИЖЕНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ К-ВИТАМИННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У НАСЕЛЕНИЯ

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

Здоровье населения в значительной степени зависит от качества питания. По данным ВОЗ, в настоящее время во всех странах мира существует проблема недостаточного или несбалансированного питания. Недостаток витаминов и минеральных веществ в организме, провоцирует возникновение гипо- и авитаминозов, а также является одним из основных факторов риска развития различных неинфекционных нозологий, таких как диабет,

сердечно-сосудистые заболеваний, некоторых форм рака.

Зачастую несбалансированное поступление витаминов и минералов у жителей нашей страны является следствием недостаточного образования населения в вопросах питания, низкого уровня доходов, отсутствия возможности правильно питаться в рабочее время, кулинарных предпочтений. Все это отрицательно сказывается

на здоровье населения страны в целом, а значит, требует срочных мероприятий, направленных на снижение риска развития различных алиментарных дефицитов.

Большое значение среди поступающих в организм человека веществ имеют витамины группы К, необходимые для осуществления процессов свертывания крови, костного метаболизма, окислительного фосфорилирования и др. В природе известны две формы нутриентов данной группы. Витамин К₂ представлен рядом менахинонов, преимущественно являющихся продуктами синтеза нормальной кишечной микрофлоры. Витамин К₁, или филлохинон, принимает участие в фотосинтезе и, следовательно, находится в пищевых продуктах растительной природы.

Высокое содержание филлохинона в продуктах растительного происхождения, а также их значительная доля в рационе, способствуют поддержанию витамина К в организме здорового человека на достаточном уровне. Однако неправильное хранение и обработка растительных продуктов могут привести к потере части содержащихся в них витаминов. Кроме того, риск развития К-витаминной недостаточности возникает у лиц, принимающих антикоагулянты или антибиотики, а также страдающих от заболеваний пищеварительной системы. Это обуславливает необходимость контроля за содержанием витамина К в организме человека с целью проведения корректировки рациона питания для снижения риска развития дефицита данного нутриента. Подобная корректировка не представляется возможной без определения содержания витамина К в продуктах питания.

В связи с вышесказанным, нами была разработана методика количественного определения филлохинона в продуктах растительного происхождения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием. Определение витамина К₁ возможно многими методами, однако использование ВЭЖХ позволяет проводить анализ филлохинона при температурах, близких к комнатным, что препятствует разрушению нестабильного нутриента.

Разработка методики количественного анализа витамина К₁ в растительном сырье включала выбор оптимальных условий его экстракции из исследуемой пробы и установление состава подвижной фазы, позволяющего добиться максимального разделения целевого соединения от других компонентов матрицы экстракта. Длина волны спектрофотометрического детектора и скорость

подачи подвижной фазы соответствовали значениям, применяемым для анализа филлохинона в сыворотке крови, и составили 248 нм и 1 см³/мин соответственно.

Этап оптимизации процедуры экстракции витамина К₁ из растительного сырья включал: выбор наиболее эффективного экстрагента, в качестве которого исследовались отдельные органические растворители (гексан, этанол, петролейный эфир, трихлорметан, 1,2-дихлорэтан, изопропиловый спирт) и их смеси; установление объемного соотношения растворителей в экстрагенте; определение кратности экстракции, обеспечивающей наиболее полное извлечение филлохинона из растительных объектов.

Установление состава подвижной фазы проводилось путем модификации элюента состава ацетонитрил : метанол : дихлорметан в соотношении 50 : 40 : 10 об.%, который, как нами ранее было показано, хорошо разделяет пробу растительного экстракта витамина К₁. Поскольку составляющие основу элюента ацетонитрил и метанол обладают близкой элюирующей силой, было решено заменить их смесь на один компонент – ацетонитрил. В качестве добавки применяли менее полярные ди- и трихлорметан, варьируя их объемную долю в подвижной фазе. При этом важными критериями оценки каждого элюента считались время разделения пробы и разрешение витамина К₁ относительно ближайших компонентов матрицы экстракта.

Разработанная методика отличается от межгосударственного стандарта, устанавливающего метод количественного определения филлохинона в пищевой продукции методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием, возможностью проводить анализ в ином диапазоне концентраций: от 1,6 до 6400 мкг/100 г. Столь широкие границы выполняемых изменений связаны с проведением концентрирования витамина К₁ для проб, в которых предполагается невысокое содержание нутриента. Кроме того, в отличие от стандарта, разработанный способ анализа не требует использования дополнительной системы послеклоночной дериватизации, что упрощает техническую комплектацию жидкостного хроматографа, а значит, делает анализ более дешевым.

Применение представленной методики определения витамина К₁ в продуктах растительного происхождения позволяет давать рекомендации относительно рациона питания, направленные на снижение риска развития К-витаминной недостаточности, учитывая при этом анамнез и кулинарные предпочтения обследуемого.

КРЯЖЕВ Д.В.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ДЕЗИНФЕКТАНТАМ У ШТАММОВ КОАГУЛАЗОТРИЦАТЕЛЬНЫХ СТАФИЛОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В ДЕТСКОМ СТАЦИОНАРЕ НИЖНЕГО НОВГОРОДА

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

Стафилококковые инфекции являются важной проблемой здравоохранения. Среди микроорганизмов, колонизирующих различные локусы организма человека, значительное количество приходится на коагулазоотрицательные стафилококки (КОС), являясь нормальными симбионтами, при определенных условиях они могут выступать в роли оппортунистических патогенов.

Развитие устойчивости к дезинфектантам у циркулирующих в больничной среде штаммов микроорганизмов снижает эффективность терапевтических и профилактических мероприятий в стационарах и является важным фактором, способствующим возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Это указывает на необходимость установления контроля за устойчивостью циркулирующих в ЛПУ микроорганизмов не только к антибиотикам, но и к дезинфектантам.

Целью данной работы явилось исследование штаммов КОС, выделенных в одном из детских стационаров Нижнего Новгорода, в плане их чувствительности к дезинфицирующим средствам.

В работе исследовано 99 штаммов КОС, относящихся к 2 видам: *Staphylococcus epidermidis* (60 штаммов) и *Staphylococcus haemolyticus* (39 штаммов), выделенных в ГБУЗ НО «Детская городская клиническая больница № 1» в ходе текущей профилактической и лечебной работы в 2016 г. от детей возраста от 1 часа до 28 суток. Микробиологический мониторинг включал взятие мазков из глаз, ушей, зева, носа, кожных складок и пупочных ранок новорожденных при поступлении в стационар и в ходе лечения, а также с интубационных трубок пациентов ОРИТ, из крови, спинномозговой жидкости и промывных вод желудка; и штаммы из внешней среды, – выделенные с рук медперсонала и из смывов с манипуляционных столиков.

Идентификацию штаммов проводили методом времяпролетной MALDI-ToF масс-спектрометрии на масс-спектрометре Autoflex speed (Bruker Daltonics, Германия) с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0.

Чувствительность к дезинфектантам определялась в растворах в соответствии с методом определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам, разработанным в Нижегородской медицинской академии Российской Федерации

(Шкарин В.В., Ковалишена О.В., Воробьева О.Н. и др., 2010). Чувствительность возбудителей к дезинфектантам оценивалась по отсутствию или наличию роста микроорганизмов на питательной среде. Штаммы считались чувствительными при полном отсутствии роста на твердой питательной среде (МПА). В случае роста от 1 до 299 КОЕ/мл штаммы расценивались как неполностью чувствительные. При росте 300 КОЕ/мл и более штаммы определялись как устойчивые. Изучена чувствительность к 3 типам дезинфектантов: «Авансепт» (основное действующее вещество полигексаметиленгуанидин гидрохлорид), «Жавилар Эффект» (дигидрат натриевой соли дихлориоциануровой кислоты), «Сепотосан-Т» (комплекс из 2-х четвертичных аммониевых соединений).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel и Biostat 2009. Определяли среднюю величину показателей (M), стандартную ошибку средних величин этих показателей (m), достоверность различий показателей в сравниваемых группах с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p = 0,05$.

Из всех тестируемых штаммов микроорганизмов 61,0 % были оценены как чувствительные, 38,0 % – не полностью чувствительные, 1,0 % – устойчивые.

Наблюдалось различие в проявлении чувствительности к дезинфицирующим средствам в зависимости от вида микроорганизмов. Более чувствительными оказались штаммы *S. epidermidis* (72,1 %) не полностью чувствительных – 26,3 %, устойчивых – 1,6 %; и менее чувствительными – *S. haemolyticus* (35,9 %), не полностью чувствительных – 64,1 %.

Наиболее высокую чувствительность штаммы КОС проявили к препаратам «Жавилар Эффект» – 94,0 % и «Авансепт» – 89,0 % от общего количества.

Неполную чувствительность штаммы КОС максимально проявили в отношении «Сепотосана-Т» – 33,0 % от общего количества.

Штамм *S. epidermidis*, выделенный с кожи пациента, отличался неполной чувствительностью к дезсредствам «Авансепт» и «Сепотосан-Т». У штамма *S. epidermidis*, выделенного в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) из глаза пациента, отмечена устойчивость к дез-

средствам «Авансепт» и «Сепотосан-Т» и неполная чувствительность к препарату «Жавилар Эффект». Штамм *S. haemolyticus*, выделенный в ОРИТ с интубационной трубки, характеризовался неполной чувствительностью к дезсредствам «Авансепт» и «Сепотосан-Т». Штамм *S. haemolyticus*, выделенный из смыва с рук медсестры, продемонстрировал неполную чувствительность к препаратам «Авансепт» и «Сепотосан-Т».

Таким образом, некоторые циркулирующие в детском стационаре КОС обладают неполной чувствительностью к дезинфектантам, что создает предпосылки для формирования госпитальных штаммов. Полученные результаты следует учитывать при организации мониторинга устойчивости бактерий к антимикробным препаратам

и дезинфицирующим средствам в медицинских стационарах.

Следовательно, выяснение закономерностей формирования и распространения устойчивости циркулирующих в детских стационарах КОС к дезинфектантам может стать основой для повышения эффективности дезинфекционных мероприятий в стационарах, – при выборе дезинфектантов для закупки в ЛПУ необходимо учитывать частоту устойчивости к ним определенных микроорганизмов, преобладающих в данной экосистеме. Данные микробиологического мониторинга устойчивости оппортунистических патогенов к дезинфектантам являются важным элементом эпидемиологического надзора для построения рациональной системы мер профилактики ИСМП.

**КУЛИКАЛОВА Е.С., ПЕРЕВАЛОВА М.А., МАЗЕПА А.В., СЫНГЕЕВА А.К.,
БАЛАХОНОВ С.В.**

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТУЛЯРЕМИИ В СИБИРСКОМ, ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ И НЕКОТОРЫХ СУБЪЕКТАХ УРАЛЬСКОГО ФЕДЕРАЛЬНЫХ ОКРУГОВ (2005 ПО 2016 гг.)

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Туляремия – природно-очаговая зоонозная инфекция, этиологическим агентом которой является *Francisella tularensis*. Заболевание передается через прямой контакт с зараженными дикими и синантропными грызунами, укусы членистоногих, вдыхание контаминированных выделениями больных животных аэрозолей, прием загрязненных возбудителями пищевых продуктов или воды.

Цель: Выявление эпидемиологических особенностей распространения туляремии на территории Сибири, Дальнего Востока и некоторых субъектов Урала в период с 2005 по 2016 гг.

Анализ проведен с использованием данных формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора за 2005–2016 гг. и Государственных докладов о санитарно-эпидемиологическом благополучии Российской Федерации и отдельных субъектов.

На изучаемой территории существуют практически все типы природных очагов туляремии: степные, луго-полевые, предгорно-ручьевые, пойменно-болотные, лесные, тундровые. Наиболее активными в эпидемиологическом плане являются очаги пойменно-болотного типа (ос-

новной носитель – водяная полевка и ондатра). В Восточной Сибири классические пойменно-болотные очаги отмечены по долине Енисея и некоторым притокам Ангары. В Западной Сибири основными местообитаниями носителей являются озерно-займищные ландшафты лесостепи и поймы Оби. Встречаются они также на междуречных озерах Алтайского края и в тундре Ямало-Ненецкого, Таймырского, а также Ханты-Мансийского автономных округов. На Дальнем Востоке очаги пойменно-болотного типа встречаются в пойменной и припойменной частях долины Амура. В этих очагах возбудитель туляремии выделен от большой полевки, серой крысы, полевой мыши, из воды местных водоемов и от клещей *Haemaphysalis concinna*, эпизоотии могут наблюдаться в течение всех сезонов. Для пойменно-болотных очагов туляремии свойственны трансмиссивные, водные и промысловые заболевания людей. Предгорно-ручьевые очаги распространены преимущественно на юге Западной Сибири – в Кемеровской, Новосибирской областях, Алтайском крае, Республике Алтай. Заражение людей возбудителем туляремии в предгорно-ручьевых очагах в подавляющем большинстве случаев (свыше 90 %) связано с употреблением для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды из инфицированных ручьев. Трансмиссивный путь

передачи инфекции, в основном, обусловлен укусами людей иксодовыми клещами. Луго-полевые очаги установлены в Омской, Томской, Иркутской областях и Красноярском крае с наибольшей эпизоотической активностью в зимнее или ранневесеннее время. Основными носителями возбудителя в них выступают узкочерепные, местами восточно-европейские полевки. Культуры туляремии в последнее десятилетие выделялись из трупа ондатры, органов грызунов, воды, иксодовых клещей в Красноярском крае. В 2015 г. на территории Каратузского района впервые из проб клещей *H. concinna* изолирован штамм туляремийного микроба среднеазиатского подвида. В луго-полевых очагах Восточной Сибири отмечен сельскохозяйственный тип заболеваемости. Степные очаги известны в степях и лесостепях Читинской области и Республике Тыва. Эпидемическая значимость очагов данного подтипа невысока, зарегистрированные единичные случаи заболевания людей туляремией, в основном, связаны с заражением от иксодовых клещей.

Лесные очаги туляремии расположены преимущественно в зоне хвойно-широколиственных лесов Сибири и меньшая часть – в зоне северных хвойных лесов Хабаровского края. В циркуляции возбудителя в этих очагах принимают участие красная, большая полевка, восточноазиатская и полевая мыши, бурундук, вовлекаются и иксодовые клещи, в основном *Ixodes persulcatus*, а также вода речек и ручьев. Эпизоотии на грызунах имеют вялотекущий характер с некоторым подъемом активности зимой и осенью. Лесные очаги характеризуются низким эпидемическим потенциалом. Тундровые очаги приурочены к тундровой и лесотундровой зонам Ямало-Ненецкого и Таймырского автономных округов. Основными носителями возбудителя туляремии в них служат сибирский и копытный лемминги. Возбудитель туляремии неоднократно выделялся из воды, льда, ила открытых тундровых водоемов и из почвенного субстрата вокруг гнезд леммингов.

При анализе многолетней динамики заболеваемости населения туляремией на территории Сибири и Дальнего Востока в период с 2005 по 2016 гг. отмечена тенденция к повышению уровня заболеваемости, хотя заболеваемость в целом по России имеет тенденцию к снижению. Беспрецедентная заболеваемость туляремией в Ханты-Мансийском автономном округе в 2013 г., когда было зарегистрировано 1005 случаев туляремии с показателем заболеваемости 63,37 на 100 тыс., обусловлена в первую очередь комплексом факторов окружающей среды. При анализе многолетней динамики заболеваемости населения туляремией на территории Уральского федерального округа

(УФО) отмечена тенденция к повышению уровня заболеваемости. Пик заболеваемости приходится на 2013 г. и превышает средний показатель в 10,5 раз. Среди детского населения (0–17 лет) в УФО в изучаемые годы отмечена тенденция к повышению уровня заболеваемости туляремией, наибольшие показатели заболеваемости приходятся на 2013 г. и превышают средний показатель в 9,1 раз. На территории Сибири отмечена тенденция к снижению уровня заболеваемости. Пик заболеваемости приходится на 2010 г. и превышает средний показатель в 2,2 раза. Среди детского населения (0–17 лет) в эти годы также установлено снижение уровня заболеваемости в Сибирском регионе с пиком заболеваемости в 2005 г. (превышает средний показатель в 6,1 раза). С августа по декабрь 2010 г. в Новосибирской области зарегистрировано 22 случая заболевания туляремией, в том числе один ребенок до 14 лет. Все заболевшие были ранее не привиты против туляремии. Единичные случаи заражения произошли в соседних Кемеровской области и Республике Алтай. В Омской области в 2016 г. на фоне активизации эпизоотических процессов зарегистрировано 24 спорадических случая туляремии.

При анализе многолетней динамики заболеваемости населения туляремией на территории Дальнего Востока в период с 2005 по 2016 гг. отмечена тенденция к повышению уровня заболеваемости. Пик заболеваемости приходится на 2015 г. и превышает средний показатель в 5,1 раза. В динамике заболеваемости детского населения (0–17 лет) туляремией на территории Дальнего Востока в изучаемые годы отмечена тенденция к росту с максимальными показателями в 2008, 2011–2014 гг., превышая средний показатель в 2,4 раза. В 2015 г. на территории Хабаровского края зарегистрировано 10 случаев заболеваний туляремией с июня по октябрь. Все заболевшие – взрослые, в основном не имеющие прививки против туляремии.

Таким образом, территориальное распределение заболеваемости туляремией в период с 2005 по 2016 гг. на территории Сибири показало, что зонами риска являются территории Новосибирской, Омской областей и республики Алтай; основными зонами риска на Дальнем Востоке – территории Хабаровского, Приморского краев и Сахалинской области; в Уральского федерального округа зоной риска является Ханты-Мансийский автономный округ. Ситуация по туляремией характеризуется наличием активных природных очагов на территории с признаками эпизоотий, невысоким уровнем иммунопрофилактики среди групп риска, спорадической и, при сочетании комплекса факторов, вспышечной заболеваемостью.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА СОКОВОЙ ПРОДУКЦИИФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,
Уфа

Одним из важных вопросов на потребительском рынке России остается качество соковой продукции, так как эта продукция не всегда отвечает требованиям, предъявляемым потребителем. Нередко в продаже встречаются фальсификаты или товары не соответствующие указанным характеристикам и нормативам. В связи с чем, представляется актуальным проведение исследований, направленных на определение качества и органического состава фруктовых соков.

Согласно принятому законодательству (ТР ТС 023/2011 Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей) под соком следует понимать «жидкий пищевой продукт, который несброжен, способен к брожению, получен из съедобных частей доброкачественных, спелых, свежих или сохраненных свежими либо высушенных фруктов и (или) овощей путем физического воздействия на эти съедобные части и в котором в соответствии с особенностями способа его получения сохранены характерные для сока из одноименных фруктов и (или) овощей пищевая ценность, физико-химические и органолептические свойства».

К соковой продукции относят не только соки, но и нектары, морсы и сокосодержащие напитки. Все эти продукты различаются составом и вкусовыми качествами. Сок, произведенный непосредственно из фруктов или овощей – это сок прямого отжима или свежееотжатый сок. Восстановленный сок – это сок, приготовленный из концентрированного сока и питьевой воды. В соках не могут содержаться консерванты, красители, ароматизаторы и подсластители. Нектар – жидкий пищевой продукт, приготовленный из концентрированного сока (пюре), питьевой воды с добавлением или без добавления одноименных натуральных ароматизующих веществ. При этом доля сока (пюре) должна составлять в зависимости от вида фруктов или овощей не менее 20–50 % от всего объема. Кроме воды в нектаре могут содержаться сахар, натуральные подкислители (например, лимонная кислота), антиокислители (аскорбиновая кислота), мякоть фруктов и овощей, клетки цитрусовых фруктов. В нектар не могут добавляться консерванты, ароматизаторы и подсластители. Сокосодержащий напиток – жидкий пищевой продукт, изготавливаемый путем смешивания сока (соков) и/или пюре, концентрированного сока (пюре) и питьевой воды при условии, что доля сока (пюре) составляет не менее 10 % (если сокосодержащий напиток изготовлен из сока лимона или лайма, то

доля концентрированного сока должна быть не менее 5 %). Морс – жидкий пищевой продукт – традиционный русский национальный напиток. Промышленный морс обычно изготавливают из смеси сока ягод (ягодного пюре), питьевой воды, сахара (или меда) при условии, что минимальная доля сока составит не менее 15 % от общего объема.

Нередко производители в погоне за удешевлением производства стремятся сократить количество дорогостоящих компонентов и заменяют их на более дешевые. В связи с этим, актуальной задачей является оценка органического состава соков и определение в них количества консервантов и подсластителей.

Органические кислоты, консерванты и подсластители в соковой продукции определяли на системе капиллярного электрофореза «Капель-105М» (ГК «Люмэкс», Россия) в химико-аналитическом отделе ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.510411). Было проанализировано 29 образцов соковой продукции из которых было 10 соков и 19 нектаров, от разных производителей и разной ценовой группы. Для расчета концентраций органических кислот и пищевых добавок были построены градуировочные характеристики для каждого из определяемых компонентов. Подготовка проб проводилась следующими методами, в зависимости от методики определения компонентов:

– определение органических кислот по М 04-47-2012 – разбавляют аликвоты проб дистиллированной водой в 100 раз с последующим центрифугированием в течение 3 минут при 5000 об/мин;

– определение консервантов и подсластителей по М 04-51-2008 – пробы центрифугируют 5 мин при 5000 об/мин, затем отбирают супернатант, разбавляют в 2–4 раза, повторно центрифугируют 5 мин при 5000 об/мин.

Пробу вводили в кварцевый капилляр, заполненный электролитом. К капилляру прикладывалось напряжение до 30 кВ. Под действием электрического поля компоненты пробы начинают двигаться с разной скоростью, зависящей от их структуры, заряда и молекулярной массы, и, соответственно, в разное время достигают детектора. Для записи и обработки полученных данных применялось программное обеспечение «Эльфوران» (ГК «Люмэкс», Россия).

В ходе анализа проб соковой продукции были получены электрофореграммы, произведена идентификация и разметка пиков определяемых

компонентов и рассчитана их концентрация. По результатам анализа электрофореграмм было показано, что из 85 образцов не соответствовали санитарным правилам (САНПИН 2.3.2.1293-03) 33 образца (38,8 %) из них 23 образца не соответствовали составу, указанному на упаковке (27,1 %). Несоответствие санитарным правилам отмечалось по массовой концентрации лимонной кислоты (максимальный уровень в фруктовых соках 3 г/дм³, в нектарах – 5 г/дм³). В 5 образцах массовая концентрация лимонной кислоты находилась на границе максимального допустимого уровня.

Средняя концентрация лимонной кислоты во всех образцах составляла 2413,44 ± 253,25 мг/дм³, а в образцах, соответствующих санитарным правилам 1465,29 ± 195,85 мг/дм³. В соках содержание лимонной кислоты было значительно ниже (636,89 ± 170,51 мг/дм³), чем в нектарах (2188,63 ± 302,22 мг/дм³) ($t = 4,27, p = 0,001$). От-

мечалось, что содержание лимонной кислоты было повышено в основном в апельсиновой соковой продукции (6750,82 ± 649,26 мг/дм³). В яблочной соковой продукции аналогичный показатель составлял 816,35 ± 290,05 мг/дм³. Содержание лимонной кислоты в продукции, предназначенной для детей раннего возраста, составляло 1519,21 ± 229,49 мг/дм³.

В составе 23 образцов не было указано наличие консервантов (бензойная и сорбиновая кислоты) и подсластителей (сахаринат натрия, ацесульфам калия). Среди продукции, предназначенной для питания детей раннего возраста, 14 образцов (36,8 %) продукции, содержали консерванты и подсластители, применение которых не разрешено в данном виде продукции.

При анализе соковой продукции на содержание аскорбиновой кислоты было выявлено, что она присутствует в 42 (49,41 %) образцах. Средняя концентрация в образцах составляла 83,59 ± 14,57 г/дм³.

ЛЕВЧЕНКО Д.А., ВОДОПЬЯНОВ А.С., ЕЖОВА М.И., НЕПОМНЯЩАЯ Н.Б.

СЛУЧАИ ЕДИНИЧНЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 ИЗ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ НА РАЗЛИЧНЫХ ТЕРРИТОРИЯХ РОССИИ С 1989 ПО 2016 ГГ.

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Холера является одной из социально-значимых особо опасных инфекционных болезней. Прогноз по холере в мире на 2017 г. остается неблагоприятным и обусловлен наличием территориальных рисков (географическое положение стран, неудовлетворительное состояние водоснабжения и водоотведения и другие) (Москвитина Э.А., 2017). При ежегодном выделении большого числа нетоксигенных штаммов холерных вибрионов из объектов окружающей среды (ООС) возникает необходимость проведения оперативного генотипирования изолятов *Vibrio cholerae*, а также сравнительного анализа установленных генотипов с базами данных и корректировкой комплекса профилактических мероприятий с учетом полученных результатов (Миронова Л.В. и др., 2017). По итогам мониторинговых исследований на наличие холерных вибрионов в ООС нами были изучены разные популяции нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 с применением молекулярно-биологического метода (ПЦР по 14 генам), который обладает высокой дискриминирующей силой (Левченко Д.А., 2016).

Таким образом, целью работы явилось установление ПЦР-генотипов (по 14 генам связанных с патогенностью / персистенцией) выборки не-

токсигенных штаммов холерных вибрионов, выделенных в единичных случаях из ООС с 1989 по 2016 гг. на различных территориях России.

В качестве стандартного программного средства для обработки территориально распределительной информации в целях комплексного мониторинга нами была использована геоинформационная система (БД ГИС) «Холера 1989–2014» (http://gis.antiplague.ru/s_cholera-genes.php) (Зубкова Д.А. и др., 2014; Кругликов В.Д., 2017) интегрированная в ГЕО – информационный портал ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Нами были отобраны 11 нетоксигенных изолятов *V. cholerae*, выделенные из ООС, ранее не контаминированных холерными вибрионами. Исходя из данных, полученных с помощью ГИС, было установлено выделение нетоксигенных штаммов холерных вибрионов на территориях 5 федеральных округов (ФО) России: Северо-Западный ФО (Архангельская обл. – р. Северная Двина (2009), Псковская область – р. Великая (2014), Калининградская обл. – р. Неман (2014 г.), Приволжский ФО (Пензенская обл. – р. Сура (2002)), Нижегородская обл. – р. Ветлуга (2001 г.), Сибирский ФО (Респу-

блика Бурятия – р. Селенга (2013; 2016), Кемеровская обл. – р. Бачат (2011), Дальневосточный ФО (Амурская обл. – р. Амур (2003)), Центральный ФО (Тульская обл. – пр. Киреевский (1991)), Ярославская обл. – р. Которосль (1998).

Исследуемые нетоксигенные изоляты *V. cholerae* были отнесены к двум ПЦР-кластерам: В (ПЦР-генотипы: В8-В10) и Е (ПЦР-генотипы: Е6, Е10). Сходство исследуемых штаммов холерных вибрионов заключалось в наличии генов кластера: RTX (*rtxC*) и T6SS (*vasK*) и отсутствии генов островов патогенности: VPI-I (*tcpA*, *toxT*), VPI-II (*vce*) и гена кластера T6SS (*acd-vgrG1*). Внутри ПЦР-кластеров штаммы отличались друг от друга наличием/отсутствием от 1 до 9 генов.

Определенный интерес представляет тот факт, что большая часть изолятов принадлежала к генотипу В8 (54,5 %). А также нами было установлено выделение нетоксигенных штаммов с вышеуказанным генотипом в 2001 г. из р. Ветлуга (Нижегородская обл.) и в 2002 г. из р. Сура (Пензенская обл.),

являющихся левым и правым притоками р. Волга, соответственно.

С нашей точки зрения выделение единичных нетоксигенных культур *V. cholerae* с одинаковым генотипом из вышеуказанных водоемов на протяжении одного–двух лет может свидетельствовать, с одной стороны о заносах, а с другой стороны, о персистентном потенциале нетоксигенных штаммов, в частности, с генотипом В8.

Таким образом, с применением многофакторной ГИС при исследовании выборки штаммов было установлено, что на территориях 5 федеральных округов и 9 административных территорий отмечалось однократное (без повторов во временном аспекте) обнаружение нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, что свидетельствовало о вероятных заносах, а двукратное выделение указанных штаммов за исследуемый период, которое отмечалось из реки Селенга (Республика Бурятия), – о способности к недолгосрочному переживанию в водоеме.

ЛЕОНТЬЕВА С.А., БРАГИНА Е.А., СТЕПАНОВА Т.Ф.

НОСИТЕЛЬСТВО АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ У МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ПОЛЕВОМ СТАЦИОНАРЕ В НИЖНЕТАВДИНСКОМ РАЙОНЕ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии
Роспотребнадзора,
Тюмень

Туляремия – классическая природно-очаговая болезнь, облигатный зооноз, источником возбудителя инфекции служат 150 видов животных (в России – 82). Почти все регионы России энзоотичны по туляремии. Наиболее активные природные очаги расположены в Центральной России и Западной Сибири и приурочены к экосистемам, связным с бассейнами крупных рек – Волги, Камы, Иртыша, Оби. В результате изучения распространения туляремии в Тюменской области было установлено, что из 37 районов 32 были энзоотичными. В.В. Попов, Н.В. Простотина (1965) при ландшафтно-эпидемиологическом районировании Тюменской области выделили 6 районов при разработке материалов за 20–22 года: обский пойменный, иртышский пойменный, пойменно-болотно-лесной западной части юга области, болотно-речной, занимающий центральную часть подзоны осиново-березовых лесов, озерно-речной, занимающий восточную часть юга области; озерно-займишный, подзоны северной лесостепи.

Исследуемый нами полевой стационар относится к пойменно-болотно-лесному району, занимает

западную часть юга области, включая поймы рек Тобола, Тавды, Туры и заболоченные междуречья. Тоболо-тавдинский участок распространяется на территории Нижнетавдинского, Яркоковского районов; заболеваемость составляет 8,7 % областного уровня, показатель $39,2 \text{ }^0/_{0000}$, до массовой вакцинации имели место значительные вспышки туляремии.

В лесном типе очага возбудитель туляремии поддерживается в основном среди рыжих полевых, лесных и желтогорных мышей, а местами – зайцами. Хранителями туляремийного микроба служат *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes trianguliceps*. Очаги этого типа распространены в зоне широколиственных и смешанных лесов, реже – в тайге. В Сибири проявляется действие различных механизмов передачи возбудителя туляремии с преобладанием трансмиссивного, контактного и алиментарного.

Отлов мелких млекопитающих (ММ) проводился на многолетнем полевом стационаре в Нижнетавдинском районе вблизи поселка Лесозавод в период с мая по сентябрь 2016 г. Стационар пред-

ставлен смешанным лесом (осиново-березовый) с густым подлеском. Многочислен валежник. Почва хорошо увлажнена и имеет толстый плодородный слой. На территории стационара имеется искусственно созданный глубокий водный канал, затененный болотной растительностью. Животный мир в основном представлен мышевидными грызунами. Насекомые представлены семействами: слепни, комары, мошки. Членистоногие семействами: иксодовые, гамазовые.

Для данного биотопа характерно проявление активности мышевидных грызунов начиная с июня месяца. Основная масса отлова приходилась на август–сентябрь. Для отлова и учета ММ использовался метод ловушко-линий. Всего отработано 650 ловушко/суток (л/с). Объем исследованного материала составил 89 особей ММ относящихся к трем семействам: землеройковые, хомяковые, мышиные. Для выявления антигена возбудителя туляремии серологическим методом у животных исследовали селезенку и печень, исследование проводили наборами «ИФА-Тул-СтавНИПЧИ» г. Ставрополь.

Результаты исследования. Численность грызунов в 2016 г. составила 13,7 на 100 л/с. Видовой состав популяции представлен 4 видами: полевка рыжая (*Myodes glareolus*), полевка красная (*Myodes rutilus*), мышь лесная (*Apodemus uralensis*), бурозубка обыкновенная (*Sorex araneus*). В качестве доминанты выступает полевка рыжая. Доля взрослых особей составила 48 %, доля молодняка – 46 %. Половая структура популяции характеризуется преобладанием самцов (55 %).

На наличие возбудителя было исследовано 84 образца печени, 70 образцов селезенки. Из всех исследованных проб возбудитель обнаружен лишь в 4, из селезенки бурозубки, мыши лесной и полевки рыжей, что составляет 2,6 % от всего материала. Данные виды являются основными

носителями туляремийного микроба в лесном очаге, и поддерживают существование возбудителя с возможностью к проявлению узлокальной эпизоотии на ограниченном участке, которая проходит незаметно, без массового падежа грызунов. Мы предполагаем, что заражение млекопитающих, в пределах популяции, произошло преимущественно трансмиссивным путем, от зараженных нимф и личинок иксодовых клещей. Большое эпидемиологическое значение имеет передача возбудителя туляремии в популяции иксодовых клещей от имаго к личинкам и нимфам, и, следуя по цепочке, прокормителям данных. Передача клещами туляремийного микроба теплокровным животным может осуществляться тремя путями: передача слюноротовым аппаратом, алиментарно – путем поедания инфицированных клещей (способ наиболее распространенный в природе) и граттаж – втирание раздавленных клещей и их экскрементов в кожу при расчесывании зверьков (Айкимбаев М.А. с соав., 1965). По восприимчивости и чувствительности к возбудителю туляремии отлавливаемые грызуны относятся к I группе, заражение происходит при попадании в организм единичных микробных клеток возбудителя.

Проведенные нами исследования подтверждают существование скрытого лесного очага туляремии, не имеющего условий для развития распространения эпизоотии. Во-первых, это низкая численность источника инфекции, мелких млекопитающих. Во-вторых, невысокая зараженность возбудителем туляремии. В-третьих, такого рода эпизоотии, протекая незаметно и не будучи связаны непосредственно с населенными пунктами или местами хозяйственной деятельности людей, не вызывают заболеваемости среди населения. Такого рода эпизоотии имеют большое значение лишь в поддержании существования возбудителя в природе.

ЛИХАЧЕВ И.В.

РАЗРАБОТКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДЕТЕКЦИИ БЕТА-ЛАКТАМАЗ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Роспотребнадзора,
Санкт-Петербург

Целью данной работы стала разработка отечественного набора реагентов для фенотипической детекции бета-лактамаз расширенного спектра действия (далее БЛРС) с помощью сравнения значения минимальной подавляющей концентрации антимикробного вещества (далее МПК) в комбинации с ингибитором бета-лактамазы и без него.

В настоящее время наблюдается увеличение числа клинически значимых штаммов, продуцирующих БЛРС. Продукция БЛРС делает неэффективным лечение рядом антибиотиков (цефалоспорины, пенициллины и монобактамы).

Одно из основных направлений по борьбе с распространением таких штаммов – свое-

ременная диагностика способности микроорганизма к выработке бета-лактамаз; наиболее распространены и просты в применении методами такой диагностики остаются фенотипические методы.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые будет разработан набор реагентов для фенотипической детекции БЛРС за счет использования технологии градиентных концентраций, отличающийся от импортных аналогов низкой стоимостью, более высокой производительностью и универсальностью. В наборе впервые будут применены новые ингибиторы бета-лактамаз.

С целью апробации технологии на основе авторской методики были изготовлены полоски с градиентом концентрации нанесенного антимикробного вещества (амикацин, цефтазидим, цефотаксим, ампициллин, амоксицилин). Исследование проводилось с использованием трех эталонных штаммов микроорганизмов из коллекции АТСС

(*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Производился посев эталонных штаммов на агар Мюллера-Хинтона с последующей аппликацией тестируемых и контрольных (производитель bioMérieux) полосок.

В ходе анализа результатов проделанной работы не было выявлено отличия в значении МПК, полученном при помощи тестируемых и контрольных полосок.

По результатам проделанной работы можно сделать следующие выводы:

1. Разработанная нами технология позволяет создавать тест-полоски с градиентными концентрациями антимикробного вещества.

2. Себестоимость получаемой продукции и высокая производительность позволяют признать выпуск набора реагентов на основании получаемых полосок рентабельным.

3. Данную технологию целесообразно положить в основу решения поставленной задачи.

**ЛОГВИН Ф.В.¹, КОНДРАТЕНКО Т.А.¹, ВОДЯНИЦКАЯ С.Ю.², РЫЖОВА А.А.²,
ВОДОПЬЯНОВ А.С.², ВОДОПЬЯНОВ С.О.², ОЛЕЙНИКОВ И.П.², БАТАШЕВ В.В.²,
ЖИЛИН В.Г.³, ШВАГЕР М.М.⁴**

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ ПО СТЕПЕНИ ЭПИЗООТОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ

¹ ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России,
Ростов-на-Дону

² ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

³ ГБУ РО Ростовская областная станция по борьбе с болезнями животных с противозэпизоотическим
отрядом,
Ростов-на-Дону

⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области»,
Ростов-на-Дону

В Российской Федерации практически каждый пятый населенный пункт имеет территориальную связь со стационарно неблагополучными по сибирской язве пунктами (СНП), на территории которых имеются многочисленные захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы.

С помощью базы данных «ГИС «Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов в Ростовской области» нами были нанесены СНП и сибиреязвенные захоронения (СЯЗ) на электронную карту Ростовской области.

Необходимо отметить, что зоны высокой плотности СНП и СЯЗ на территории Ростовской области не совпадают. Очевидно, что распределение СЯЗ связано с хозяйственной деятельностью

человека. Проанализировав сельскохозяйственную и антропогенную нагрузки территории Ростовской области, можно предположить, что скученность СЯЗ на востоке области связана с экономическим профилем этой зоны (основная специализация восточных районов области – развитое животноводство, в основном, овцеводство). Отсутствие заболеваний людей и животных на территориях с высокой плотностью СЯЗ может быть связано с небольшой антропогенной нагрузкой из-за низкой плотности проживающего в этой зоне населения и наименьшей в области интенсивностью сельхозпроизводства, а также проводимыми санитарно-ветеринарными мероприятиями.

С целью оценки степени опасности СЯЗ в Ростовской области были изучены природные и социальные факторы. Природные факторы в местах расположения СЯЗ оценивались по характеру ландшафта, гидрологическим, гидрогеологическим и почвенным условиям. Для оценки социальных факторов информация собиралась по трем параметрам – соответствие СЯЗ требованиям действующих нормативных документов, использование их в хозяйственной деятельности и наличие балансодержателя.

Оценка опасности СЯЗ проводилась количественно. Для этого каждому изучаемому показателю присваивались соответствующие баллы опасности от 1 до 10.

Первым этапом оценки опасности СЯЗ явилась оценка ситуации по сибирской язве на территории Ростовской области за 1990–2016 гг. За территориальную единицу был принят административный район.

Вторым этапом явилась бальная оценка заболеваемости сельскохозяйственных животных (СХЖ) в указанный период по районам Ростовской области – также от 1 до 10 баллов.

Далее, пользуясь Реестром СЯЗ, представленным специалистами Управления ветеринарии Ростовской области, и разработанной ГИС была проведена количественная оценка с использованием показателей:

- количество СЯЗ в административном районе,
- соответствие/несоответствие санитарно-ветеринарным требованиям (при несоответствии – 10 баллов),
- использование СЯЗ в хозяйственных целях («нет» – 0 баллов, «да» – 10 баллов),
- расположение в низине с высоким стоянием грунтовых вод – 10 баллов,

– близость к поверхностным водоемам – 10 баллов (10 – расстояние в километрах). Например, если скотомогильник расположен в 1 км от водоема – это 9 баллов, если в 6 км – 4 балла,

– расстояние до случая регистрации заболевания сибирской язвой, количество баллов – 10 баллов (10 – расстояние в километрах). Например, если ближайший случай заболевания в 6 км – это 4 балла.

Для комплексной количественной оценки рисков использован принцип оценки по суммарному показателю, который рассчитывался, исходя из критериев опасности. Ранжирование районов Ростовской области по степени эпизоотолого-эпидемиологической опасности позволило выделить четыре степени – от низкой до очень высокой.

В группу с очень высокой степенью опасности вошли три района, в группу с высокой степенью опасности 7 районов, с повышенной степенью опасности – 10 районов, с низкой степенью опасности – 20 районов и 3 города. В трех районах области заболеваемость людей и СХЖ в 1990–2016 гг. не регистрировалась, СЯЗ отсутствуют.

Таким образом, комплексная оценка риска позволила определить степень эпизоотолого-эпидемиологической опасности каждого района области и выявить районы повышенного риска. Установлено, что большая часть районов имела низкую степень опасности (20), повышенную и высокую степени – 17 районов, три района – очень высокую. Отсутствие заболеваний людей на территориях с высокой плотностью СЯЗ (территории высокого и очень высокого риска) может быть связано с низкой плотностью населения, снижением интенсивности сельхозпроизводства, неблагоприятными природными факторами (полупустынная зона, засушливый климат, солонцеватые почвы) и проводимыми профилактическими мероприятиями.

ЛУЧИНИН Д.Н.

ФОРМИРОВАНИЕ РЕЕСТРА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОБЪЕКТОВ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Согласно СП «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» для дезинфекции объектов, контаминированных возбудителями ООИ, рекомендуется весьма ограниченный выбор традиционных дезинфицирующих средств, таких как: растворы хлорамина, перекиси водорода и т.п. Использование более современных препаратов, например, на основе

натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты или трихлоризоциануровой кислоты, предлагается использовать в соответствии с их инструкциями по применению.

В настоящее время в существующих интернет ресурсах не удалось найти удобной и полной информации о дезинфектантах, прошедших испытания согласно требованиям Руководства

Р 4.2.2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», и рекомендованных для обработки тех или иных объектов, зараженных ПБА I-II групп патогенности. Печатные варианты справочников по дезсредствам выпускаются с большим опозданием, и в них, как правило, не предусматривается выборка препаратов по особо опасным инфекциям.

К настоящему моменту нами подобрана информация о более чем 150 препаратах различных классов, предназначенных для дезинфекционной обработки объектов, контаминированных микроорганизмами I-II групп патогенности, прошедших испытания в соответствии с действующим законодательством и имеющих инструкции по при-

менению. На основе этого разработана логическая структура информационной базы дезинфектантов, предназначенных для обеззараживания объектов, контаминированных возбудителями особо опасных инфекций (чума, туляремия, споры сибирской язвы, сап, мелиоидоз) с указанием их названий, кратких описаний, рабочих концентраций. Каждое средство имеет ссылку на электронную копию инструкции по применению, в которой отражены полные сведения о препарате и способах его применения.

По завершению работы по формированию базы будет создан ее электронный вариант с размещением в сети Интернет. При создании электронной версии реестра будет обеспечена возможность его пополнения сведениями о новых дезинфицирующих препаратах, прошедших испытания.

МОЛЧАНОВА Е.В.

НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ КОЛЛЕКЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В РАМКАХ ПАСПОРТИЗАЦИИ ШТАММОВ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ ФКУЗ ВОЛГОГРАДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ РОСПОТРЕБНАДЗОРА

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Возбудители мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) и сапа (*Burkholderia mallei*) относятся к микроорганизмам II группы патогенности (опасности) и являются потенциальными агентами биотерроризма группы В. Возможность завоза мелиоидоза и сапа на территорию Российской Федерации (РФ), а также опасность преднамеренного использования *B. pseudomallei* и *B. mallei* в качестве средства биологического терроризма диктуют необходимость наличия представительной коллекции охарактеризованных штаммов этих микроорганизмов как базы для проведения исследований (изучения свойств возбудителей, разработки и испытания средств диагностики, внедрения современных методов и новых технологий и т.д.).

Коллекция микроорганизмов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора входит в перечень биологических и генетических коллекций РФ (<http://www.sevin.ru/collections/microorganisms.html>) и включает 14 штаммов *B. mallei*, выделенных в различных географических регионах (Монголия, Югославия, Венгрия, Польша, Индия, Индонезия), и 59 штаммов *B. pseudomallei* (Вьетнам, Австралия, Таиланд), полученных в 70–80-х гг. прошлого столетия из научно-исследовательских учреждений Советского Союза. Штаммы возбудителя

мелиоидоза (*B. pseudomallei*) и сапа (*B. mallei*) содержатся и в коллекциях микроорганизмов США, Великобритании, Бразилии, Венесуэлы, Таиланда и Малайзии, а также в государственных коллекциях патогенных бактерий РФ (Российский научно-исследовательский противочумный институт «МИКРОБ», ГКПМ-Оболенск). Основная роль в изучении данных видов микроорганизмов в РФ отводится ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, на базе которого сформирован «Референс-центр по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза» – координирующий, консультативно-методический, учебный, диагностический и экспертный орган по вопросам индикации, экспресс-диагностики, идентификации и типирования *B. pseudomallei* и *B. mallei* на территории Российской Федерации.

К направлениям совершенствования деятельности государственных и учрежденческих коллекций патогенных микроорганизмов относятся: оптимизация существующих методов и разработка новых технологий консервации, использование современных методов фенотипической и молекулярно-генетической паспортизации, внедрение новых информационных технологий каталогизации, паспортизации и учета движения патогенных штаммов, а также формирование универсальной единой базы данных.

Первостепенной задачей коллекции микроорганизмов является сохранение штаммов в неизменном состоянии в течение длительного периода времени. Это осуществляется чаще всего с помощью методов сублимационного высушивания или криоконсервации при низких температурах (–20–85 °С), каждый из которых имеет преимущества и недостатки.

В ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора для сублимационного высушивания микроорганизмов IV группы патогенности используется лиофильная сушка коллекторного типа нового поколения CoolSafe 110 Freeze Dryer. Для использования этого метода консервации патогенных буркхольдерий необходима инженерно-техническая модернизация данной системы, обеспечивающая биологическую безопасность на всех этапах работы, и создание регламентирующих документов федерального уровня, разрешающих ее использование с микроорганизмами I–IV группы патогенности.

Низкотемпературная консервация по сравнению с лиофилизацией для хранения микроорганизмов более универсальна в связи с наличием и доступностью оборудования – низкотемпературных холодильников. Однако данный способ предполагает наличие системы постоянного температурного контроля, аварийной сигнализации с уведомлением об изменении температурного состояния, системы охлаждения помещения хранилища, дублированного энергоснабжения, а также резервных морозильных камер. Кроме того, время хранения биоматериала при этих температурах также ограничено. Длительность хранения бактерий при этом зависит от биологических особенностей штамма и от условий замораживания и хранения (скорость охлаждения-оттаивания, температура и среда культивирования).

В целом, оба метода сохранения референтных штаммов патогенных микроорганизмов необходимы для одновременного использования в коллекциях. Культуры в лиофилизированном состоянии в виде ампул/флаконов удобны для транспортировки при передаче между учреждениями, а также в качестве резервного многолетнего источника штаммов, в замороженном состоянии – для оперативной повседневной деятельности (выдача в структурные подразделения, изучение свойств и т.д.).

Еще одним направлением деятельности коллекций микроорганизмов является установление таксономической принадлежности штаммов и подтверждение их аутентичности в процессе воспроизводства. В крупных международных коллекциях и государственных коллекциях патогенных микроорганизмов РФ для этого сегодня используется ряд современных автоматических технологий, в частности биохимическое профилирование с применением микробиологических анализаторов,

масс-спектрометрия по технологии MALDI-ToF, рибопринтинг, фрагментарное, мультилокусное и полногеномное секвенирование.

Для фенотипической паспортизации коллекционных штаммов буркхольдерий в ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора применяют бактериологический анализатор Vitek 2 GN (bioMerieux, Франция) и масс-спектрометр Axima™ Confidence (Shimadzu, Япония) с базой данных S.A.R.A.M.I.S.™ (Anagnostec GmbH, Германия).

Универсального алгоритма молекулярно-генетической характеристики патогенных микроорганизмов не существует. Выбор методов определяется видом возбудителя и возможностями каждой отдельной коллекции: ее назначением, обученностью персонала, материально-техническим обеспечением и т.д. Для стандартизации получаемых результатов в целях генетической паспортизации штаммов предлагается использовать единый алгоритм молекулярного типирования для каждого вида патогенных микроорганизмов I–II группы: для штаммов возбудителя мелиоидоза методы – VAT, MLVA и MLST/полногеномное секвенирование, для штаммов возбудителя сапа – DFR, MLVA и полногеномное секвенирование.

Во всех учреждениях Роспотребнадзора, на базе которых имеются структурные подразделения коллекций патогенных микроорганизмов, разработано информационное сопровождение оперативной коллекционной деятельности. Информация в базах данных достаточно разнородна и зависит, в частности, от исходных данных по единицам хранения, предназначения коллекции, наличия инструментов информационных технологий и персонала. Такая гетерогенность каждой конкретной коллекции, как по содержанию, так и по формату, затрудняет информационный обмен.

В ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора создан электронный каталог (Microsoft Excel) коллекционных штаммов патогенных микроорганизмов и база данных (Microsoft Access) «Коллекционные штаммы патогенных буркхольдерий ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» (государственная регистрация № 2017620285).

В настоящий момент в рамках унификации коллекционной деятельности в учреждениях Роспотребнадзора разрабатывается «Положение об обеспечении коллекционной деятельности в области патогенных микроорганизмов». Целью данного документа является создание единой формы учетной документации, алгоритма выборки изолятов, подлежащих хранению, процедуры паспортизации коллекционного штамма и общего электронного каталога патогенных микроорганизмов для обеспечения информационного обмена между структурами этого ведомства.

ГОМОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЭКЗОСКЕЛЕТА *Ixodes persulcatus* И *Ixodes pavlovskyi* В ЗОНЕ СИМПАТРИИ¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск

Таежный клещ (*Ixodes persulcatus* Schulze, 1930) является эпидемиологически наиболее значимым переносчиком вируса клещевого энцефалита и боррелий на территории Приморского края. Наряду с этим, территория Приморского края входит в ареал близкородственного *I. persulcatus* вида – *I. pavlovskyi*, участвующего в поддержании циркуляции тех же возбудителей и нередко обитающего в одних с таежным клещом биотопах (Якименко В.В. и др., 2013). В ранних исследованиях показано, что особи таежного клеща с нарушениями строения экзоскелета (аномалиями, морфозами) чаще инфицированы патогенной и непатогенной для человека микрофлорой, обладают большей двигательной активностью, более выраженным отрицательным геотаксисом, и, как следствие, создают повышенную эпидемиологическую опасность (Семенов А.В., 2003; Alekseev A.N. et al., 2006; Алексеев А.Н. и др., 2008; Морозов И.М. и др., 2015).

Цель работы – сравнить изменчивость экзоскелета имаго клещей *I. persulcatus* и *I. pavlovskyi*, собранных в зоне симпатрии видов.

Исследовано 647 имаго таежного клеща (339 самок и 308 самцов) и 453 – *I. pavlovskyi* (242 самки и 211 самцов). Все клещи собраны в период 2013–2016 гг. на острове Русском Приморского края (43°00' с.ш., 131°50' в.д.) с растительности на флаг стандартными методами (Методические указания..., 2012). Исследование на наличие аномалий экзоскелета проводилось с помощью микроскопа МС-2 «Биомед» (×80) и МБС-10, ЛОМО (×84). Для классификации аномалий применена схема, предложенная проф. А.Н. Алексеевым и соавт. (Alekseev A.N. et al., 1996; Алексеев А.Н. и др., 2008). Статистическая обработка выполнена с применением стандартных показателей и методов вариационной статистики (Елисеева И.И., Юзбашев М.М., 2004)

Сравнение самок двух видов. У самок таежного клеща зарегистрировано пять типов морфозов, у самок *I. pavlovskyi* – шесть. У самок *I. persulcatus* в основном наблюдаются изменения, затрагивающие поверхность щитка. У *I. pavlovskyi* кроме нарушений скутума также отмечены один случай редукции ноги (P23) и две особи с нарушением развития перитрем (в работах А.Н. Алексеева с соавт. аномалии перитрем не описаны).

Доля аномальных самок *I. persulcatus* достоверно превышала долю таковых у *I. pavlovskyi* – 26,8 % против 4,1 % ($t = 7,1$; $df = 579$; $p < 0,001$).

Самая распространенная аномалия у самок обоих видов – P9 (конгломерат выпуклостей и вдавлений на поверхности щитка, напоминающий «шагреневую кожу») – составляла 60,2 % у *I. persulcatus* и 35,7 % у *I. pavlovskyi* от числа особей, имеющих нарушения экзоскелета. Остальные зарегистрированные морфозы, такие как P6 (парные вдавления на одной из сторон скутума), P7 (парные вдавления на обеих сторонах скутума), P8 (одиночное вдавление на одной из сторон скутума) встречаются достаточно редко. Но в сумме все эти редкие аномалии также достоверно чаще регистрируются у таежного клеща ($t = 3,6$; $df = 579$; $p < 0,001$). У самок обоих видов бывают особи, имеющие два морфоза одновременно. По доле таких особей различия между самками сравниваемых видов незначимы ($p > 0,05$).

Сравнение самцов двух видов. Из 211 самцов *I. pavlovskyi* только у двух особей были зарегистрированы аномалии, тогда как у самцов таежного клеща – 22 из 308, что составляет 0,9 и 7,1 % соответственно от объема выборок ($t = 3,3$; $df = 517$; $p < 0,001$). Кроме того, и число типов аномалий у самцов таежного клеща больше – шесть, у *I. pavlovskyi* – всего два (особь с нарушением развития апрона и прилегающих щитков и клещ с измененными перитремами).

Наиболее распространенное нарушение экзоскелета самцов таежного клеща на о-ве Русском – P11 (парные вдавления в задней части конскутума). Оно зарегистрировано у 17 особей из 308 (5,5 % от всей выборки, 77,3 % от всех аномалий). Однако необходимо отметить, что для самцов *I. pavlovskyi* наличие вдавлений в задней части скутума является нормой, но не сопровождается изменением пунктировки и поверхности кутикулы, как это наблюдается в случае P11 у таежного клеща.

Очень редко, буквально у одиночных особей, у самцов таежного клеща встречаются аномалии P9, P2 (нарушение развития или редукция пальпы), P12 (одиночное вдавление в задней части конскутума), P23 (редукция ноги). У *I. pavlovskyi* они не зарегистрированы вовсе.

Таким образом, между изменчивостью экзоскелета двух видов *Ixodes* у самок и самцов, со-

бренных на о. Русском, наблюдается определенная гомология по типам, однако проявляются морфозы с разной частотой. Доля особей с аномалиями выше у таежного клеща. И для *I. persulcatus*, и для *I. pavlovskyi* частота морфозов у самок больше, чем у самцов. Ранее показана клинальная изменчивость

строения экзоскелета у *I. persulcatus* в азиатской части России (Никитин А.Я., Морозов И.М., 2016; 2017), так что представляет интерес в дальнейшем проследить характер географической изменчивости этого вида, а также исследовать эпидемиологическую роль особей *I. pavlovskyi* с морфозами.

НЕГОДЕНКО А.О., ХРАПОВА Н.П.

ПРИМЕНЕНИЕ DOT-ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ МЕЛИОИДОЗА

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

В настоящее время одной из актуальных задач, решение которой направлено на совершенствование схемы лабораторной диагностики особо опасных инфекций, признано внедрение в практику простых в исполнении, достоверных, не требующих сложного оборудования методов, позволяющих выполнять тестирование поступающих на исследование проб, как в полевых условиях, так и в условиях относительно слабо оснащенных лабораторий территориального уровня.

Целью работы являлась оценка эффективности применения dot-иммуноферментного метода для обнаружения возбудителя мелиоидоза, *Burkholderia pseudomallei*, и его антигенов в исследуемых пробах.

В работе были использованы: обеззараженные бактериальные взвеси *B. pseudomallei*; водно-солевые экстракты (ВСЭ) 13 различных коллекционных штаммов возбудителя мелиоидоза; 10 экспериментальных образцов формамидных экстрактов (ФЭ), приготовленных в различное время из обеззараженных м.к. *B. pseudomallei* 100; экстрацеллюлярные антигены (ЭЦА), изолированные из жидких питательных сред выращивания буркгольдерий II группы патогенности (*B. mallei*, штаммы Ц-4 и Ц-5; *B. pseudomallei* 57576, *B. pseudomallei* C-141, *B. pseudomallei* 59361, *B. pseudomallei* 100).

Иммунпероксидазные конъюгаты (ИПК) готовили на основе мышинных моноклональных антител (МКА) различной эпитопной направленности. Источником получения МКА являлись гибридомы-продуценты моноклональных иммуноглобулинов против диагностически значимых антигенов возбудителя мелиоидоза из коллекции лаборатории иммунодиагностики: МКА 3С6, 6Е7, 6А11, 4А10, 7А8 против эпитопов антигена 200 kDa (гликопротеин капсулы), МКА против антигена 8 (2А6, 2Н7, Ррм I, Ррм II), против эпитопов, общих для антигенов 8 и 6 (1F4), против ЛПС возбудителя мелиоидоза (2А7).

В работе применяли прямой вариант dot – ИФА. Общая структура и условия постановки реакции

соответствовали известным стандартам. В качестве твердой фазы использовали нитроцеллюлозную мембрану (НЦМ) фирмы Amersham Hybond-C Extra (Швеция) с величиной пор 0,45 мкм. Образцы испытуемых проб, приготовленных на 0,1 М ФБР, рН 7,4 с 0,05 % твин-20, наносили на предварительно подготовленную НЦМ, по 3 мкл на поверхность индивидуальных помеченных квадратиков площадью 0,5 × 0,5 см, выдерживали при +4 °С в течение 1 ч. Затем мембрану инкубировали в 1%-ном растворе, приготовленном из «сухого молока», в течение 30 мин при 37 °С, отмывали, подсушивали и обрабатывали ИПК в рабочем разведении. На завершающем этапе реакции использовали субстратную смесь, состоящую из хромогена – диаминобензидина и перекиси водорода. Учет результатов реакции проводили через 20–30 мин визуально.

При выполнении серии экспериментов с образцами антигенов *B. pseudomallei* различной степени очистки и при наличии разнообразных вариантов ИПК, приготовленных на основе МКА узкой специфичности, были получены доказательства того, что с помощью dot-ИФА метода можно осуществить расширенный скрининг различных проб материала, предположительно контаминированного антигенами возбудителя мелиоидоза, или образцов заведомо известных антигенов этого микроорганизма, получаемых в лаборатории для экспериментальных исследований. Так, при работе с сериями формамидных экстрактов *B. pseudomallei* 100: 2, 4, 16, «а», 17, 18, 19, 21, 23, 24, содержащих антиген 200 kDa, и различными образцами ИПК, приготовленными на основе МКА против эпитопов этого антигена, было установлено, что ИПК 3С6 выявлял антиген 200 kDa в составе серий 17 и 23. В то же время ИПК на основе МКА 6Е7 выявлял присутствие гомологичных эпитопов в сериях 4, 17, 23, ИПК на основе МКА 4А10 и ИПК на основе МКА 7А8 узнавали гомологичные им эпитопы только в серии 4, а ИПК на основе МКА 6А11 обнаруживал гомологичный

эпитоп в сериях 4, 16, 17 и 23. Эти скрининговые исследования не только подтвердили относительную простоту в выполнении существенного объема dot-ИФА реакций и учета результатов при наличии подготовленных и охарактеризованных ИПК, но и позволили получить новые данные о свойствах различных серий ФЭ.

Эксперименты с образцами ВСЭ, каждый из которых представляет собой смесь водорастворимых антигенов, полученных из обеззараженных микробных клеток конкретного штамма *B. pseudomallei* из числа использованных в работе, позволили оценить диагностические возможности ИПК, примененных в реакциях с 13 образцами проб. Установлено, что ИПК 1Е10 обладал высокой степенью активности в реакции, выявил гомологичные МКА эпитопы в 8 образцах ВСЭ из 13 проверенных проб, приготовленных из м.к. штаммов *B. pseudomallei* 51274, 56738, 56770, 56830, 116, 56812, 110, 57576. Другой ИПК на основе МКА 1F10

также проявил заметную активность, однако в сравнении с ИПК 1Е10 его результативность оказалась ниже: 6 положительных результатов из 9 проверенных проб (*B. pseudomallei* 51274, 56770, 56830, 116, 56812, 57576).

Результаты исследования ЭЦА, изолированных из жидких сред выращивания возбудителей мелиоидоза (*B. pseudomallei*, штаммы 57576, С-141, 100) и сапа (*B. mallei* Ц-5) свидетельствовали о том, что наиболее эффективным детектирующим реагентом для выявления экстрацеллюлярных антигенов патогенных буркхольдерий явился ИПК 2А6 на основе МКА против антигена 8 (гликопротеин в составе капсулы).

В целом, полученные результаты подтвердили эффективность метода и продемонстрировали возможности применения dot – ИФА для выявления антигенов возбудителей мелиоидоза и сапа в различных образцах антигенного материала: ВСЭ, ФЭ, ЭЦА.

НЕЗНАМОВА А.В., АГЕЕВА Н.П.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АВТОМАТИЧЕСКОГО ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Клинический анализ крови – самый распространенный и широко используется как один из самых важных методов обследования при большинстве заболеваний.

Клеточный состав крови довольно постоянен, поэтому даже незначительные изменения его, наступающие при заболеваниях, могут быть показателями различных физиологических и патологических состояний и имеют важное диагностическое значение.

В 50-е годы прошлого столетия в клиническую практику стали активно внедрять технологию автоматического подсчета форменных элементов крови, что значительно увеличило эффективность проводимых исследований, повысив их скорость, стандартность, производительность и экономичность.

Современные гематологические анализаторы различных моделей от разных производителей, требуя для своей работы минимальное количество крови, позволяют в короткие сроки определять до 30 различных показателей.

В исследовании был использован автоматический гематологический анализатор BC-2800Vet китайской компании Mindray. Пропускная способность данного прибора – 20 проб в 1 час. Полученные результаты выводятся на экран анализатора и затем распечатываются в форме протокола ис-

следования. За 3 минуты он позволяет исследовать кровь одного животного и получить данные по 18 показателям, из которых 4 являются основными (количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов), а остальные – их характеристикой.

Этот прибор предназначен для ветеринарных исследований, и в его диапазон входят 13 видов как домашних, так и лабораторных животных с возможностью дополнения еще тремя видами по усмотрению исследователя.

Целью работы было определение средних значений количества форменных элементов крови лабораторных животных и изучение возможности применения прибора для исследования крови, содержащей буркхольдерии.

Тестировалась кровь различных биомоделей (золотистые хомячки, морские свинки, белые мыши, кролики), и в дальнейшем полученные результаты были сопоставлены с данными литературы. Белые мыши составили самую многочисленную группу обследованных лабораторных животных, поэтому результаты, полученные для данного вида животных, можно считать достоверными для использованного гематологического прибора.

Была исследована кровь 50 особей по всем 18 параметрам, 4 основных показателя (количе-

ство гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) мы сравнивали с данными литературы. Показатели количества эритроцитов и тромбоцитов совпадали с данными других анализов. Уровень лейкоцитов и гемоглобина был ниже.

Так как работа продолжается, идет все большее пополнение количественных данных, средние показатели будут постоянно корректироваться. Однако уже сейчас можно считать, что составлена база исходных данных показателей крови белых мышей как основа для исследований на указанном анализаторе.

Для работы с инфицированными животными необходимо было отработать условия обеззараживания крови, которые при минимальном времени обработки гарантируют полное обеззараживание с сохранением структуры форменных элементов крови.

В качестве модельного штамма мы использовали *B. thailandensis* 264.

В наших исследованиях общепринятый способ обеззараживания крови с использованием мертиолята натрия в конечной концентрации 1:1000 с часовой экспозицией при комнатной температуре не приводил к полному обеззараживанию и, кроме того, вызывал изменения показателей интактной крови: выраженное увеличение количества тромбоцитов, эритроцитов, а, следовательно, изменение показателей количества гемоглобина, незначительные вариации других показателей.

В то же время разведение мертиолята натрия 1:500 полностью обеззараживало пробу в течение 15 мин без существенных повреждений клеток крови.

Таким образом, на данном этапе были получены исходные средние показатели клеточного состава крови и определены условия безопасной работы на гематологическом анализаторе компании Mindgray при исследовании крови, содержащей буркхольдерии.

**НОСКОВ А.К., ВИШНЯКОВ В.А., ПЕРЕВАЛОВА М.А., ШАРАКШАНОВ М.Б.,
БАЛАХОНОВ С.В.**

РИСКОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ ПРИРОДНОГО ХАРАКТЕРА

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

На территории Российской Федерации (РФ) практически ежегодно регистрируются чрезвычайные ситуации (ЧС) природного характера: катастрофические наводнения и паводки, разрушительные землетрясения, масштабные пожары – требующие экстренного реагирования со стороны территориальных органов и учреждений Роспотребнадзора и здравоохранения с целью минимизации санитарно-эпидемиологических последствий этих событий. Между тем, научно обоснованный спектр наиболее вероятных рисков эпидемического проявления инфекционных болезней среди пострадавшего населения при отдельных видах ЧС не сформирован, остается неразработанной методология оценки формирующихся в результате различных природных катастроф эпидемиологических рисков (ЭР). Также существует необходимость создания алгоритма мероприятий, осуществляемых территориальными органами, учреждениями и специализированными мобильными формированиями Роспотребнадзора в периоды повседневной деятельности, повышенной готовности к ЧС природного характера, во время события и в период ликвидации его санитарно-эпидемиологических последствий.

Б.Л. Черкасский в 2007 г. разработал и научно обосновал методологию рискологического подхода оценки отдельных угроз общественному здоровью, основные направления которого перспективны и для прогнозирования эпидемиологических последствий ЧС природного характера. К настоящему времени разработаны методологический подход и методика количественной оценки внешних и внутренних эпидемиологических рисков, ассоциированных с опасными инфекционными болезнями, для отдельного субъекта РФ на уровне его муниципальных районов (Носков А.К., Вишняков В.А., 2014) и методика оценки потенциальной эпидемической опасности массовых мероприятий с международным участием в период их подготовки и проведения (Удовиченко С.К., 2015; Пяташина М.А., 2015).

Необходимо отметить, что ЧС природного характера с наибольшей частотой влекут за собой формирование следующих неблагоприятных санитарно-эпидемиологических последствий: ухудшение среды обитания; скопление людей в пунктах временного размещения; пребывание в условиях скученности различных социальных групп населения: жителей пострадавших территорий, временно находящихся в данной местности

россиян и граждан иностранных государств, в т.ч. прибывших из неблагополучных по опасным инфекционным болезням местностей; повышение восприимчивости пострадавшего населения к инфекционным болезням (прежде всего острым респираторным и кишечным инфекциям); снижение качества медико-санитарной помощи; нарушение штатной работы учреждений здравоохранения и Роспотребнадзора; увеличение контактов населения с носителями и переносчиками природно-очаговых инфекций, в т.ч. по причине миграции мелких млекопитающих и других диких животных, увеличение контактов домашних животных и синантропных грызунов с дикими млекопитающими – носителями возбудителей зоонозов.

Остается нерешенной задача четкого определения «контингентов риска» во время природных катастроф различного характера и в ближайший после ЧС период для организации мероприятий по специфической и неспецифической профилактике инфекционных болезней с различными путями передачи возбудителя. При возникновении ЧС природного характера в местах массового туристического посещения гражданами РФ и иностранных государств отдельного решения требуют вопросы реализации мероприятий в рамках санитарной охраны территории. При этом помимо возрастания угроз эпидемических проявлений опасных инфекционных болезней, обусловленных неблагоприятными факторами самой ЧС, резко увеличиваются ЭР формирования временных эпидемических очагов, связанных с завозом опасных болезней из других (эндемичных) административных территорий, и последующим опосредованным завозом туристами и другими лицами в места постоянного проживания, что является риском формирования ЧС в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение. Кроме того, события такого рода несут и социально-экономические последствия, в т.ч. обусловленные формированием отрицательного туристического имиджа территории.

На основе опыта работы в зонах природных катастроф определены основные направления деятельности органов и учреждений Роспотребнадзора и здравоохранения по минимизации санитарно-эпидемиологических последствий ЧС природного характера: мониторинг природных очагов опасных инфекций; мониторинг стационарно-неблагополучных пунктов по сибирской язве; санитарно-гигиенический и микробиологический мониторинг качества хозяйственного и питьевого водоснабжения населенных мест, про-

дуктов питания; микробиологический мониторинг поверхностных водоемов на наличие холерного вибриона; эпидемиологическое расследование с этиологической расшифровкой и ликвидация эпидемических очагов острых респираторных и кишечных инфекций (грипп, в т.ч. вызванный новыми подтипами вируса, ОРВИ, ветряная оспа, корь, краснуха, скарлатина, внебольничные пневмонии, в т.ч. легионеллез, сальмонеллез, шигеллез, гепатит А, энтеровирусные инфекции, астро-, норо-, ротавирусная инфекция и др.); специфическая профилактика инфекционных болезней (вакцинация против гепатита А, шигеллеза Зонне, гриппа, брюшного тифа, чумы, туляремии, сибирской язвы, фагирование поливалентным бактериофагом и т.д.); санитарная очистка и дезинфекция пострадавших территорий; дератизационные и дезинсекционные мероприятия; информационно-разъяснительная работа с населением. Каждое из указанных направлений профилактических мероприятий имеет свои особенности в зависимости от вида ЧС и эпидемиологической обстановки на пострадавшей территории, в т.ч. от доминирующих внешних и внутренних ЭР, определенных при дифференциации субъекта РФ.

Ретроспективно установлено, что для различных групп субъектов азиатской части РФ характерны определенные ЧС природного характера. Так, на юге Дальнего Востока практически ежегодно регистрируются дождевые паводки, возникающие в результате интенсивных муссонных дождей; в Южной Сибири периодически возникают землетрясения, природные пожары, весенние паводки на горных реках и т.д.

Таким образом, требуется разработка объективного способа оценки ЭР, характерных для отдельных видов ЧС природного характера, возникающих на территории различных субъектов РФ, для минимизации эпидемиологических последствий события. По результатам оценки ЭР формулируются базовые принципы распределения направлений и объемов работ между территориальными органами, учреждениями и специализированными мобильными формированиями Роспотребнадзора с целью исключения дублирования функций и достижения максимальной результативности комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий. Конечным результатом исследования является разработка унифицированного алгоритма мероприятий в периоды повседневной деятельности, повышенной готовности к ЧС природного характера, во время события и ликвидации их санитарно-эпидемиологических последствий.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* СРЕДНЕВЕКОВОГО БИОВАРА ИЗ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И СТРАН СНГ

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
Саратов

Штаммы *Yersinia pestis* основного подвида средневекового биовара составляют филогенетическую ветвь 2.MED, являющуюся одной из наиболее молодых и генетически однородных на эволюционном стволе этого бактериального вида. Они циркулируют исключительно в природных очагах Евразии и на сегодняшний день не обнаружены на других континентах. На территории Российской Федерации и стран СНГ штаммы *Y. pestis* средневекового биовара распространены в большинстве природных очагов чумы и циркулируют в условиях биоценозов различных ландшафтно-географических зон. Штаммы средневекового биовара относятся к высоковирулентным и эпидемически значимым. В прошлом они неоднократно служили причинами больших эпидемий и вспышек чумы на территории современных трансграничных очагов Прикаспия. Все это делает актуальной задачу их исследования с помощью современных молекулярно-генетических методов.

Целью настоящего исследования явился анализ популяционной структуры и филогении штаммов возбудителя чумы средневекового биовара из природных очагов стран СНГ, включая трансграничные очаги России и Казахстана, с помощью современных молекулярно-генетических методов.

Для проведения филогенетического анализа использовали алгоритм построения филогенетических деревьев по данным полногеномного SNP анализа с применением таких биоинформационных программ, как Wombac 2.0, MEGA 7.0, PhyML 3.1 и FigTree 1.4.3. В исследовании были использованы полногеномные последовательности 46 штаммов средневекового биовара *Y. pestis*, выделенных как в начале 20 века (1910–1932 гг.), так и в более поздний период (1970–2014 гг.). В результате проведенного филогенетического анализа с использованием метода Maximum Likelihood было построено филогенетическое дерево штаммов.

Все исследуемые штаммы относятся к филогенетической линии 2.MED1 и подразделяются на две крупные ветви, соответствующие регионам происхождения – Среднеазиатско-Китайскую и Кавказско-Каспийскую. Расширенная выборка полногеномных последовательностей штаммов средневекового биовара, выделенных в различные

временные периоды, позволила нам подробно изучить их популяционную структуру.

В Среднеазиатско-Китайскую ветвь вошли штаммы, выделенные на территории природных очагов Казахстана, Туркменистана, Кыргызстана, Узбекистана и Китая. Внутри ветвь делится на 3 отдельных кластера штаммов. Первый кластер образован штаммами из Кызылкумского, Приаральско-Каракумского, Северо-Приаральского и Каракумского пустынного очагов. Все они располагаются в районе Аральского моря. Второй кластер представлен штаммами из Таласского высокогорного и Прибалхашского пустынного очагов, располагающихся на северо-востоке Кыргызстана и западной части Казахстана, соответственно. Третий кластер полностью состоит из штаммов, выделенных на территории Синьцзян-Уйгурского автономного района в Китае. Штаммы 2 и 3 кластеров имеют ряд общих SNP's, что может быть обусловлено территориальной близостью районов их выделения. Отдельно на Среднеазиатско-Китайской ветви расположены кластеры штаммов из Муюнкумского пустынного очага и штамм из Таукумского пустынного очага.

Значительный интерес для изучения представляет Кавказско-Каспийская ветвь. В ее составе можно выделить 3 группы штаммов: штаммы из очагов Кавказа и Закавказья, штаммы из очагов Прикаспия начала 20 века и штаммы, выделенные на территории очагов Прикаспия в период 1970–2014 гг. Первая группа представлена штаммами из Терско-Сунженского низкогорного, Центрально-Кавказского высокогорного и Приараксинского низкогорного очагов, а также штаммами из Мильско-Карабахского, Бозчельского и Кобыстанского очагов, составляющих Закавказский равнинно-предгорный очаг. Вторая группа включает штаммы из северного и восточного Прикаспия и делится, соответственно, на два кластера штаммов. В первый входят штаммы из Мангышлакского, Устюртского и Каракумского пустынных очагов. Все они находятся в восточном Прикаспии. В кластере штаммов из очагов северного Прикаспия присутствует группа, включающая 4 штамма из трансграничного Волго-Уральского песчаного очага и 2 штамма из Зауральского степного очага, расположенного в Казахстане. Другая группа штаммов из очагов

северного Прикаспия представлена изолятами из Прикаспийского песчаного (3 штамма), Прикаспийского Северо-Западного степного (2 штамма) и Дагестанского равнинно-предгорного очагов (2 штамма). Стоит отметить, что 1 штамм из Дагестанского равнинно-предгорного имеет высокую степень сходства по SNP профилю со штаммами из Прикаспийского песчаного очага. В то же время другой штамм из этого очага имеет идентичный SNP профиль со штаммами из Прикаспийского Северо-Западного очага, что может быть связано с близким территориальным расположением указанных очагов и сходством условий биоценозов. Штаммы из еще одного трансграничного очага – Волго-Уральского степного – обладают рядом уникальных SNP и образуют отдельный кластер на филогенетическом дереве средневековых штаммов. Последняя группа Кавказско-Каспийской ветви состоит из штаммов, выделенных в очагах северного Прикаспия во время больших эпидемий чумы, произошедших здесь в начале 20 века. Они образуют множество отдельных ветвей на дендрограмме и не имеют общих SNP's с изолятами, выделенными на территории этих же очагов в современный период (1970–2014 гг.).

Исходя из большого количества уникальных SNPs у этих штаммов, можно предположить, что они эволюционировали с разной скоростью и независимо друг от друга. Возможные причины такого характера эволюции их геномов предстоит установить в дальнейшем.

Таким образом, нами проведен анализ популяционной структуры и филогении штаммов *Y. pestis* основного подвида средневекового биовара, выделенных на территории природных очагов чумы РФ и других стран СНГ, включая трансграничные очаги России и Казахстана – Волго-Уральский песчаный и Волго-Уральский степной. Показан филогеографический принцип кластеризации штаммов *Y. pestis* средневекового биовара. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования, включая увеличение числа полногеномных последовательностей штаммов, позволят определить распространение различных SNP генотипов штаммов средневекового биовара на территории РФ и других стран СНГ.

Часть результатов в этом исследовании получена в рамках реализации распоряжения правительства РФ № 1864-р от 5 сентября 2016 г. по снижению рисков завоза и распространения по территории РФ чумы из трансграничных очагов.

ОХЛОПКОВА О.В.¹, САФАТОВ А.С.¹, АНДРЕЕВА И.С.¹, РЕЗНИКОВА И.К.¹, БУРЯК Г.А.¹,
ТЕПЛЯКОВА Т.В.¹, МОИСЕЕВА А.А.¹, СИМОНЕНКОВ Д.В.²

ИЗУЧЕНИЕ БИОАЭРОЗОЛЯ В ПРИЗЕМНОМ СЛОЕ АТМОСФЕРЫ СЕВЕРА ЗАПАДНОСИБИРСКОГО РЕГИОНА

¹ ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора,
р.п. Кольцово, Новосибирская область

² ФГБУН Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН,
Томск

Атмосферные аэрозоли, и биоаэрозоли в частности, являются неотъемлемой частью атмосферы. Аэрозоли оказывают влияние на климат территории (перераспределение радиационных потоков в атмосфере, образования ледяных ядер или капель воды на аэрозольных частицах в облаках с последующим выпадением дождя и снега и др.) и на экосистемы, включая воздействия на здоровье населения путем увеличения частоты некоторых заболеваний и аллергий. Кроме того, жизнеспособные микроорганизмы, входящие в состав атмосферных биоаэрозолей, могут вызывать и инфекционные заболевания человека, животных и растений. Поэтому изучение концентрации и разнообразия микроорганизмов в воздушной среде является крайне актуальным.

Целью данной работы является исследование в приземном слое и на высотах до 4000 м числен-

ности и состава жизнеспособных микроорганизмов и других биогенных компонентов.

Для достижения поставленной цели в июне 2017 г. сотрудниками ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора в составе летной экспедиции был произведен отбор проб атмосферного аэрозоля для изучения биогенной компоненты на севере Западносибирского региона. Самолетное зондирование проходило по маршруту: г. Новосибирск – г. Сургут – п. Игарка – г. Новосибирск.

Исследуемая территория находится на территории Западносибирской равнины. Рельеф анализируемой местности представлен сочетанием равнин, предгорий и гор. По климатическим условиям г. Сургут и п. Игарка приравнены к Крайнему Северу.

В пределах указанной территории самолет-лаборатория в дневное время суток последо-

вательно пролетал над местностью на высотах 400 м и 4000 м. Для каждой высоты отбирали по две пробы воздуха на фильтры типа АФА-ХА для определения массы суммарного белка в течение примерно 30 минут. Объем забранного воздуха фиксировался для каждой пробы. Масса суммарного белка является универсальным маркером наличия компонентов биологического происхождения. С помощью данного показателя можно судить о насыщенности атмосферы биологическими частицами.

Кроме того, для последующего анализа и определения жизнеспособных микроорганизмов, пробы воздуха отбирали в импинджеры из нержавеющей стали. Частицы осаждали в закрученную входящим потоком (с расходом 50 ± 5 л/мин) по стенкам прибора жидкость. В качестве сорбирующей жидкости использовали 50 мл раствора Хэнкса (ICN Biomedicals). Для прокачки проб воздуха через импинджер использовали насос (марки А-Д1-04, производство ОАО «Кот», Санкт-Петербург, Россия).

Для определения массовой концентрации суммарного белка в пробах использовали флуориметрический метод, основанный на приобретении белком интенсивной флуоресценции после его модификации флуорогеном реактивом. В качестве модифицирующих реагентов использовали 3-4-карбоксобензоил хинолин-2-карбоксияльдегид (CBQCA) – реагент, образующий при взаимодействии с белками флуоресцирующие производные с более высоким квантовым выходом, чем у других красителей.

Для обнаружения жизнеспособных микроорганизмов взятые пробы высевали на чашки Петри, содержащие следующие агаризованные питательные среды: LB и обедненную среду LB (разбавление 1:10) – для выявления сапрофитных бактерий; крахмало-аммиачную среду – для выявления актиномицетов; почвенный агар, среды Сабуро и Чапека – для выявления низших грибов и дрожжей. Инкубировали высевы в термостате при температуре 28–30 °С в течение 3–20 суток. Морфологические особенности обнаруженных микроорганизмов исследовали визуально и с помощью световой микроскопии. Таксономическую принадлежность выявленных микроорганизмов определяли до рода.

В ходе зондирования выявлены определенные тенденции в отношении исследуемых величин. Массовые концентрации суммарного белка в пробах на промежутке маршрута от г. Новосибирска до г. Сургута варьировались в диапазоне от 0,014 до 0,663 мкг/м³ на высоте 400 м и около 0,02 мкг/м³ на высоте 4000 м. Массовые концентрации суммарного белка в пробах на промежутке маршрута от п. Игарка до г. Новосибирска варьировались в диапазоне от 0,036 до 0,175 мкг/м³ на высоте 400 м и имели значение около 0,057 мкг/м³ на вы-

соте 4000 м. Данное соотношение величин этого показателя указывает на большую насыщенность биологическими частицами атмосферного аэрозоля в приземном слое, чем на более значительных высотах.

В пробах выявлены микроорганизмы широко распространенных родов, таких как *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, актиномицеты, дрожжи и плесневые грибы. Наиболее значимо в пробах в приземном слое на промежутке маршрута от г. Новосибирска до г. Сургута были представлены кокки, бациллы и дрожжи, а на высоте 4000 м преобладали актиномицеты. Неспорообразующие бактерии были широко представлены на всем спектре высот.

На высоте 400 м в пробах на промежутке маршрута от п. Игарка до г. Новосибирска преобладали актиномицеты, а на высоте 4000 м – кокки. Неспорообразующие бактерии обнаруживались в значительном количестве во всех пробах со всего спектра высот, но наибольшее их количество обнаруживалось на высоте 4000 м.

Данные экспериментальные результаты по численности и составу жизнеспособных микроорганизмов и других биогенных компонентов в приземном слое и на высотах до 4000 м на севере Западносибирского региона были получены впервые. Исходя из полученных данных, можно сделать некоторые выводы, массовые концентрации суммарного белка на высоте 400 м значительно больше, чем на высоте 4000 м, вероятно, эти различия объясняются как влиянием локальных источников биоаэрозолей, так и различием движений воздушных масс.

Относительно жизнеспособных микроорганизмов в результате исследования было выявлено преобладание в приземном слое севера Западносибирского региона кокков, бацилл и дрожжей. Неспорообразующие бактерии были широко представлены во всех пробах. При сравнении микробиологического состава в пробах с маршрута от г. Новосибирска до г. Сургута и маршрута от п. Игарка до г. Новосибирска был отмечен интересный факт. На промежутке маршрута от г. Новосибирска до г. Сургута актиномицеты преобладали на высоте 4000 м, а на промежутке маршрута от п. Игарка до г. Новосибирска широко выявлялись в приземном слое и почти отсутствовали в пробах, отобранных с высоты 4000 м.

Таким образом, установлено, что атмосфера севера Западносибирского региона достаточно насыщена частицами биологического происхождения. Более детально их влияние, миграцию и изменчивость, а также потенциальную патогенность можно будет установить в дальнейших систематических исследованиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке CNRS France, проект YAK-Sib 2017.

Благодарим за организацию и помощь в проведении исследований Аршинова Михаила Юрьевича и Белана Бориса Денисовича.

вича и Белана Бориса Денисовича.

ПЕРЕТОЛЧИНА Н.П.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ CRISPR-ЛОКУСОВ ШТАММОВ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИЯХ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, Иркутск

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

CRISPR/Cas-система – это адаптивная защитная система бактерий от мобильных генетических элементов (МГЭ). Она представлена набором коротких палиндромных повторов, разделенных уникальными спейсерными последовательностями, и комплексом генов, отвечающих за функционирование всей системы. Данная структура называется CRISPR-локусом. В последние годы в научной среде возрос интерес к изучению CRISPR-системы в связи с различным применением ее как в медицинской, так и в научной практике. Так, например, эффекты Cas-генов могут быть использованы для редактирования генов, а изучение структуры CRISPR-локусов дают информацию об эволюции и разнообразии штаммов бактерий на определенной территории или в экосистеме.

Целью настоящего исследования явилось определение разнообразия спейсерных последовательностей штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, циркулирующих на территориях Сибири и Дальнего Востока.

В ходе исследования было изучено 98 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных от больных людей, животных и птиц. Так как известно, что в геноме *Y. pseudotuberculosis* находятся 1–3 локуса CRISPR-системы, нами были подобраны специфичные праймеры к локусам YP1, YP2 и YP3 с помощью онлайн-инструмента Primer-BLAST. Фрагменты локусов были выделены с помощью стандартной ПЦП с последующим секвенированием амплифицированных фрагментов. Для фрагментов длиной более 1000 п.н. были подобраны внутренние праймеры.

Все изученные *Y. pseudotuberculosis* имеют CRISPR-систему типа IF. В ходе исследования вы-

явлено 5 групп штаммов с различным количеством локусов: (1) 12 штаммов с тремя CRISPR-локусами (YP1, YP2 и YP3); (2) 5 – с двумя (YP1 и YP2); (3) 78 – также с двумя локусами (YP1 и YP3); (4) один штамм – только с локусом YP1; (5) 2 – только с локусом YP2. Внутри групп штаммы также были разделены на подгруппы исходя из длин локусов и спейсерного состава.

В результате анализа полученных данных было обнаружено, что в группах 1, 2 и 5 представлены штаммы, циркулирующие, как в Сибири, так и на Дальнем Востоке. В многочисленную третью группу вошли преимущественно штаммы, циркулирующие на территории Сибири. Кроме того, в этой группе, в зависимости от длины локуса YP3 выделено две подгруппы: 2000 п.н. и 800 п.н. Локусы второй подгруппы состоят из 9 спейсеров, которые также находятся на концах локусов YP3 штаммов подгруппы 1. Следует заметить, что ни в одной группе или подгруппе нет четкого территориального разделения по спейсерному составу локусов.

Таким образом, на территориях Сибири и Дальнего Востока циркулируют штаммы *Y. pseudotuberculosis* с различным спейсерным составом. Наиболее вариабелен CRISPR-локус YP3, что свидетельствует о функционировании CRISPR/Cas-системы в отношении данного локуса. Локус YP1 достаточно консервативен в пределах данного региона. Возможно, что штамм в процессе эволюции приобрел шаблон CRISPR/Cas-системы, а затем достраивал локус YP3 в ходе встреч с МГЭ. Результаты данной работы помогут установить механизм приобретения и работы CRISPR-системы.

ЦИТОКИНЫ КАК БИОМАРКЕРЫ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЛЕПТОСПИРОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

ФБУН НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
Санкт-Петербург

Лептоспирозы – зооантропонозная инфекция, протекающая в виде острого лихорадочного заболевания, характеризующаяся признаками капилляротоксикоза, выраженной интоксикацией, поражением почек, печени, центральной нервной системы, развитием геморрагического синдрома. Возбудителем лептоспироза являются микроорганизмы рода *Leptospira*, принадлежащие к самостоятельному семейству *Leptospiraceae* в порядке *Spirochaetales*. К настоящему времени известно более 250 серовариантов патогенных лептоспир.

В Российской Федерации лептоспироз – одна из наиболее часто встречающихся природно-очаговых зооантропонозных инфекций человека, что обусловлено наличием почти на всех территориях, как в сельской местности, так и в городах, его природных и хозяйственных очагов. Ежегодно в России регистрируется от 1,5 до 2,5 тысяч заболевших людей (около 1,0 на 100 тыс. населения). В последние годы значительно увеличился риск заражения лептоспирозом в связи с ростом популярности отдыха в тропических и субтропических странах, где данная инфекция имеет наибольшее распространение. Также заражению способствуют активно развивающиеся водные виды спорта, связанные с риском контакта с водой, контаминированной выделениями животных-лептоспироносителей.

В ряде случаев лептоспироз у человека протекает в легкой форме, сопровождаясь неспецифическими симптомами, такими как лихорадка, боль в мышцах и головная боль, однако у 10–15 % больных развивается тяжелая форма, которая часто быстро прогрессирует и может привести к летальному исходу. Летальность в случае развития тяжелых форм лептоспироза достигает 20 %, а в случае развития легочного геморрагического синдрома превышает 50 %.

Клиническая картина лептоспироза, особенно на ранней стадии, является неспецифической, схожей с проявлениями при других инфекционных заболеваниях (нет патогномоничных признаков), поэтому диагностика основана, прежде всего, на результатах лабораторных исследований. Несмотря на развитие лабораторной медицины, «золотым стандартом», признанным во всем мире, остается классическая реакция микроагглютинации (РМА). Данный серологический тест основан на обнаружении антител к антигенам лептоспир в сыворотках крови животных и человека. Огромным минусом данного диагностического теста является

время диагностики – крайне позднее появление специфических антител в сыворотке крови пациента (период разгара и в более поздние сроки болезни), что приводит к упущению драгоценного времени для проведения этиотропной терапии, и как следствие, может привести к драматическим последствиям.

В настоящее время, цитокины рассматриваются как более ранние маркеры иммунного ответа на инфекционные агенты. Поиск данных биомаркеров (ранних) являются актуальной задачей для современной медицины. Ранняя диагностика заболеваний является наиболее важным аспектом для проведения успешной терапии, которая поможет избежать тяжелых осложнений (таких как синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС – синдром), легочного геморрагического синдрома, требующих увеличения койко-дней у пациентов и привлечения дорогостоящих методов терапии – гемодиализ, искусственная вентиляция легких и т.д.). Таким образом, разработка простого и экономичного в исполнении метода, позволяющего предсказать тяжесть клинических проявлений и возможности появления серьезных осложнений, представляет собой актуальную задачу для практической медицины.

Цель работы – выявление биомаркеров тяжести течения лептоспирозной инфекции (цитокинов).

Объектом исследования стали сыворотки крови от больных лептоспирозом ($n = 147$). В качестве контрольной группы – сыворотки от практически здоровых лиц. Для экспериментальной части работы был взят штамм из коллекции лаборатории зооантропонозных инфекций НИИ Пастера – *Leptospira interrogans*. Данным штаммом проводилась 24-часовая стимуляция цельной крови здорового донора с дальнейшим отбором супернатантов. Определение цитокинов в биоматериалах (сыворотки и супернатанты) проводилось на анализаторе «MagPix» («Millipore», США) с использованием стандартной панели из 9 аналитов: TNF- α , MCP-1, IL-8, IL-4, IL-6, IL-10, IL-1Ra, IL-12(p70), IFN- γ . Математическую обработку данных осуществляли с применением программы GraphPadPrizm6 (GraphPad Software, США).

При изучении цитокинов *in vivo* в группе больных лептоспирозом по сравнению с контрольной группой выявлены достоверно повышенные уровни IL-8, IL-10, MCP-1, TNF- α ($p < 0,05$). Выявле-

ны корреляционные связи между TNF-α и MCP-1, TNF-α и IL-1Ra ($r = 0,51$; $r = 0,49$ соответственно), такие же связи были обнаружены и в группе контроля (но более сильные: $r = 0,69$ для обоих случаев). Выявлена корреляционная связь между IL-12(p70) и IFN-γ ($r = 0,55$) в опытной группе, нехарактерная для группы контроля. Установлено, что увеличение уровня провоспалительных цитокинов к 3 неделе болезни на фоне низких концентраций противовоспалительных цитокинов играет важную роль в развитии поздних осложнений при лептоспирозе.

В части *in vitro* впервые было показано, что пик стимуляции для большинства цитокинов при-

ходится на 2–3 час стимуляции (IFN-γ, IL-12p(70), IL-1Ra, IL-4 (причем для двух последних цитокинов после достижения пика, продукция цитокинов выходит на плато). Непохожую на остальные цитокины динамику дали IL-8 и TNF-α, которые имеют пики стимуляции, приходящиеся на 6 ч.

Необходимо проводить новые, обширные исследования о взаимодействии цитокинов и их роли в иммунопатогенезе лептоспирозов. Эти данные помогут выявить биомаркеры, позволяющие спрогнозировать тяжесть клинических проявлений и возможности появления серьезных осложнений, что представляет собой актуальную задачу для практической медицины.

ПИВНЕВА О.С., МЕЛЕНТЬЕВ А.В.

ОСОБЕННОСТИ ГИГИЕНИЧЕСКОГО НОРМИРОВАНИЯ ПЕСТИЦИДОВ В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ

ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,
Мытищи

В настоящее время значимость проблемы гигиенической регламентации пестицидов в объектах окружающей среды, в том числе и в водных объектах, определяется широкомасштабной химизацией сельскохозяйственного производства.

При установлении предельно допустимой концентрации (ПДК), учитываются несколько показателей вредности: органолептический, общесанитарный и токсикологический. Минимальная из трех величин рекомендуется как ПДК, с указанием лимитирующего показателя вредности.

При нормировании пестицидов в воде водных объектов часто лимитирующими показателями вредности являются органолептический и общесанитарный (около 70 % по ГН 1.2. 3111-13).

Накопленный опыт по гигиеническому нормированию пестицидных препаратов в водных объектах указывает на необходимость уточнения и дополнения ряда положений действующего методического документа, расширения арсенала методов оценки влияния пестицидов на органолептические свойства воды, процессы самоочищения водных объектов и выбора индикаторных веществ многокомпонентных технологических смесей.

В первую очередь это относится к условиям постановки экспериментов и трактовки полученных результатов при определении пороговых концентраций препаратов по влиянию на органолептические показатели.

Определенные затруднения вызывает процедура установления пороговой концентрации по влиянию пестицида на запах воды при хлориро-

вании, особенно для препаратов, не обладающих специфическим запахом.

Так же, необходимо установление пороговых концентраций препаратов по влиянию на окраску и мутность при различных температурах.

При определении пороговой концентрации по влиянию пестицидных препаратов на пенообразование воды необходимо определить время, в течение которого устанавливается мелкопузырчатая пена у краев цилиндра.

Во-вторых, в исследованиях по установлению пороговых концентраций пестицидов по влиянию на процессы самоочищения водных объектов.

При проведении экспериментальных исследований по оценке влияния пестицидов на биохимическое потребление кислорода (БПК) рекомендуется повысить процент отклонения БПК от контроля до 20 % при ингибировании и до 25 % при стимуляции процесса.

Действующие методические указания не регламентируют количественные изменения процессов аммонизации и нитрификации в водоемах. Вместе с тем, продукты деструкции действующих веществ могут оказывать влияние на колориметрические реакции при определении в воде водоемов ионов аммония и нитритов.

В данных случаях оценка влияния препарата на процесс минерализации органического вещества должна основываться на анализе баланса уменьшения аммиачного азота, нарастания и убыли нитритного азота и нарастания азота нитратов в каждый момент определения.

Комплексное описание гидродинамических, гидрохимических и гидробиологических процессов в водных объектах необходимо для успешного планирования, оперативного управления и контроля над качеством водной среды.

На основе аналитического решения модифицированной системы уравнений Стритера-Фелпса предложены формулы для вычисления биохимической потребности в кислороде и коэффициента скорости биохимического окисления. Предложенная новая формула позволяет рассчитать БПК полное по двум измеренным значениям БПК за период времени T и $2T$ (2 и 4 дня или 5 и 10 дней). Это позволяет сократить время на постановку экс-

перимента, трудовые затраты, а так же химические реактивы на уровне исследований. Формула представлена в методических указаниях «Обоснование пороговых концентраций пестицидов по влиянию на качество воды и санитарное состояние водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (Москва, 2016).

Усовершенствование методических подходов расширит возможности химико-аналитических и расчетных методов прогноза санитарно-эпидемиологической опасности новых пестицидов, направлены на повышение эффективности управления качеством воды водных объектов и разработки систем водоохраных мероприятий.

ПИМЕНОВ Н.Н., ЧУЛАНОВ В.П.

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С И ЕГО ИСХОДОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва

Гепатит С представляет собой инфекционную болезнь человека вирусной этиологии с преимущественным поражением печени, характеризующуюся бессимптомным течением острой формы инфекции (70–90 % случаев) и склонностью к развитию хронической формы (60–80 % случаев) с возможным исходом в цирроз печени (ЦП) и гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). Наряду с туберкулезом, ВИЧ-инфекцией, малярией и другими инфекционными болезнями гепатит С является одной из глобальных медико-социальных проблем. Согласно последним оценкам ВОЗ число больных хроническим гепатитом С (ХГС) в мире составляет 71 млн человек (1 % от общей численности населения).

На 69 Всемирной ассамблее здравоохранения (май 2016 г.) была принята первая глобальная стратегия по вирусному гепатиту, целью которой стала элиминация гепатита как серьезной угрозы здоровью населения к 2030 г. Основными целевыми показателями глобальной стратегии стали снижение числа новых случаев хронических вирусных гепатитов В и С на 90 % и снижение числа случаев смерти от вирусного гепатита В и С на 65 % к 2030 г. В сентябре 2016 г. Европейский региональный комитет ВОЗ утвердил План действий сектора здравоохранения по борьбе с вирусными гепатитами в Европейском регионе. В соответствии с принятыми целевыми ориентирами к 2020 г. 50 % всех лиц с хроническими вирусными гепатитами В, С и D и 75 % лиц с циррозом печени или гепатоцеллюлярной карциномой должен быть поставлен диагноз,

и, кроме того, 75 % пациентов с ХГС, которые соответствуют критериям назначения лечения, должны пройти курс противовирусной терапии, и не менее 90 % из них должны полностью излечиться.

Социальная и экономическая значимость проблемы парентеральных вирусных гепатитов в РФ продолжает оставаться высокой. По данным Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» в 2016 г. было зарегистрировано 68,1 тыс. случаев хронического вирусного гепатита, из которых 77,7 % составляет ХГС.

Целью исследования стало выявление современных эпидемиологических особенностей гепатита С и его неблагоприятных исходов (ЦП и ГЦК) на территории России.

Для изучения проявлений эпидемического процесса гепатита С был проведен ретроспективный эпидемиологический анализ данных по заболеваемости острыми и хроническими формами инфекции в РФ и на отдельных территориях страны в 2001–2016 гг., а также в различных возрастных группах населения страны в 2011–2016 гг. Оценка распространенности ХГС в РФ в 2011–2016 гг. проводилась на основе сведений о числе больных хроническими вирусными гепатитами, состоящих на диспансерном учете в медицинских организациях на конец отчетного года. Для оценки уровней и динамики заболеваемости, распространенности и смертности от фиброза печени (ФП) и ЦП были проанализированы данные о пациентах с впервые в жизни установ-

ленным диагнозом, общем количестве пациентов, состоящих на учете, и пациентах, умерших от ФП и ЦП (кроме алкогольного) в 2011–2015 гг. Для оценки уровней и динамики заболеваемости, распространенности и смертности от ГЦК проанализированы данные о количестве пациентов с впервые установленным диагнозом печеночно-клеточного рака (С22.0), о количестве пациентов, состоящих на учете с ГЦК на конец отчетного года, а также количестве пациентов, умерших от злокачественных новообразований (ЗНО) печени и внутрипеченочных желчных протоков (ВЖП) в РФ в 2011–2015 гг.

Материалами для исследования стали формы федерального статистического наблюдения за инфекционными и неинфекционными заболеваниями в РФ и статистические данные по мониторингу за вирусными гепатитами, представленные Управлениями Роспотребнадзора в субъектах РФ.

В результате анализа частоты регистрации новых случаев ХГС в 2001–2016 гг. выявлены две разнонаправленные тенденции: период выраженного роста с 2001 по 2009 гг. (с 29,5 до 40,9 случаев на 100 тыс. населения соответственно) сменился периодом снижения показателя, который достиг в 2016 г. 36,1 сл. на 100 тыс. населения. Отмечаются выраженные отличия по уровням регистрации хронических форм гепатита С как между федеральными округами, так и отдельными субъектами РФ. Показатели заболеваемости острым гепатитом С за анализируемый период снизились в 13,9 раз (с 16,7 сл. на 100 тыс. населения в 2001 г. до 1,2 сл. в 2016 г.).

Наиболее высокие показатели регистрации ХГС выявлены среди лиц в возрасте 30–39 лет. В динамике регистрации ХГС в различных возрастных группах населения РФ в 2011–2016 гг. наблюдался рост числа случаев в возрастной группе 40–49 лет (с 44,9 сл. на 100 тыс. населения в 2011 г. до 58 сл. в 2016 г.) и снижение в группе 20–29 лет (с 64 сл. на 100 тыс. населения в 2011 г. до 21,3 сл. в 2016 г.).

Общее число пациентов с ХГС в РФ, состоящих на диспансерном учете на 31 декабря 2016 г., составило 591 830 чел. (407 чел. на 100 тыс. населения) и увеличилось по сравнению с 2011 г. на 25 %.

При анализе динамики неблагоприятных исходов ХГС установлено, что в 2015 г. показатель заболеваемости ФП и ЦП в РФ составил 12,7 на 100 тыс. населения (18 460 чел.), показатель распространенности – 75,9 на 100 тыс. населения

(110 951 чел.), а показатель смертности от ФП и ЦП (кроме алкогольного) – 24,0 на 100 тыс. населения (34 673 чел.). По сравнению с 2011 г. данные относительные показатели увеличились на 22,8, 12,3 и 6,7 % соответственно. При этом по результатам проведенных исследований (Хазанов А.И. и др., 2007) доля ХГС в общей этиологической структуре ФП и ЦП составляет 23,6 %.

Показатели заболеваемости ГЦК, распространенности ГЦК и смертности от ЗНО печени и ВЖП в РФ в 2011–2015 гг. возрастали, однако темп их прироста был невысоким. В 2015 г. показатель заболеваемости ГЦК в РФ составил 5,5 на 100 тыс. населения (8083 чел.), показатель распространенности – 5,0 на 100 тыс. населения (7360 чел.), а показатель смертности – 6,8 на 100 тыс. населения (9908 чел.). По сравнению с 2011 г. данные относительные показатели увеличились на 17,4, 6 и 11,7 % соответственно. Относительно низкий рост показателей распространенности ГЦК обусловлен высокими показателями летальности в данной группе больных: 71,4 % в 2012 г., 73,5 % в 2013 г., 73,1 % в 2014 г. Доля пациентов со ЗНО печени и ВЖП, состоящих на учете с момента установления диагноза в течение 5 лет и более не превышает 26–27 %. При этом известно, что ГЦК вносит основной вклад в уровень смертности от ЗНО печени и ВЖП в РФ поскольку ее доля в общей этиологической структуре составляет 55,1 % (Мерабишвили В.М. и др., 2015). Также в разных исследованиях установлено, что ХГС является одной из основных причин развития ГЦК (31–55 % случаев).

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что снижение в последние годы общей заболеваемости острыми и хроническими формами гепатита С в РФ свидетельствует об уменьшении активности факторов риска инфицирования HCV и сокращении числа заболевших, не выявленных в предыдущие годы. В то же время в РФ ежегодно увеличивается общее число инфицированных HCV, что является причиной роста заболеваемости и распространенности ЦП и ГЦК и смертности от данных неблагоприятных исходов болезни. Значительное снижение социально-экономического бремени гепатита С в РФ и достижение целевых показателей ВОЗ по элиминации вирусного гепатита к 2030 г. будет возможно только при высоком охвате больных противовирусным лечением с использованием современных высокоэффективных препаратов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДНК ФАГОВ ПАРАГЕМОЛИТИЧЕСКИХ И ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ В ОП-ПЦР

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Бактериофаги – постоянные спутники патогенных вибрионов. Одним из ведущих направлений современной микробиологии и биотехнологии являются исследования, посвященные изучению природы бактериофагов. Это также связано с возрастающим интересом к бактериофагам с точки зрения их практического применения для диагностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний в различных отраслях медицины, сельского хозяйства и промышленности.

Среди патогенных вибрионов особое место занимают *Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio cholerae*. Заболевание, вызываемое *V. parahaemolyticus*, привлекает внимание исследователей в связи со вспышками токсикоинфекций, ассоциирующихся с загрязнением морепродуктов галофильными вибрионами. Холерный вибрион вызывает такую древнюю болезнь, как холера. Несмотря на непрекращающиеся усилия ограничить распространение холеры, *V. cholerae* продолжает вызывать эпидемии на различных континентах.

Бактериофаги патогенных вибрионов характеризуются широким морфологическим и генетическим разнообразием, поэтому их идентификация и исследование структуры ДНК является актуальной проблемой, тесно связанной с их литической специфичностью при взаимодействии фага с клеткой-хозяином.

Целью настоящего исследования явилась генотипическая характеристика ДНК бактериофагов парагемолитических и холерных вибрионов в ОП-ПЦР.

В своих исследованиях по генотипированию бактериофагов мы использовали преимущественно однопраймерный вариант ПЦР и набор универсальных праймеров (45, 1, 2, D9A, 21, OPLZ 13, M 13, Ap7, pUC/M13 и WO).

Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами. Все работы со штаммами *V. cholerae* проводили в соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.3118-13» и «Инструкцией по контролю специфической стерильности экспериментальных препаратов, приготовленных из культур чумного и холерного микробов».

Хромосомную ДНК бактерий выделяли из агаровой культуры с использованием протеиназы К (Serva, ФРГ). Качество нативной ДНК и результаты ПЦР контролировали электрофорезом в 5%-ном полиакриламидном геле в аппарате для электро-

фореза типа «Midget» (Hoefer Scientific Instrument, США) в присутствии маркеров, представляющих собой смесь MspI гидролизата плазмидной ДНК pUC19, Hind III и BglI-гидролизатов ДНК фага λ.

Аmplификацию проводили на амплификаторе «Терцик» производства «ДНК-Технология» (Москва) в следующем режиме: 94 °С (денатурация) – 15 сек; 42 °С (отжиг) – 20 сек; 72 °С (синтез) – 15 сек (всего 40 циклов). Инкубационная смесь (15 мкл) для ПЦР содержала 20 мМ трис-НСl, рН 8,6; 7 мМ MgCl₂; 10 мМ (NH₄)₂SO₄; 0,5 мМ EDTA; 100 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина; по 250 мкМ каждого из дезоксинуклеозидтрифосфатов (Serva); 0,1–1,0 мкМ соответствующего праймера; 2 ед. Taq-полимеразы и 1–10 нг ДНК исследуемого фага.

Качество полученных препаратов ДНК холерных бактериофагов проверяли в RAPD-анализе (амплификация с универсальными праймерами), в ПЦР со специфическими праймерами (на ompT и ompU – ген холерных вибрионов) и путем характеристики их генома при обработке рестрикционными эндонуклеазами (PstI, SalI, Hind III и др.) (Helicon, США). Амплификацию и гидролиз эндонуклеазами осуществляли согласно рекомендациям фирмы.

В работе исследовали ДНК фагов следующих парагемолитических вибрионов (индикаторный штамм *V. parahaemolyticus* KM-97): 7; 155; 616; 1154; 16763; 17036; 17078; 17722s; 17748; 19152 и ДНК диагностических фагов холерных вибрионов (1, 6, 7, M13), отобранных из коллекции лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора.

Исследования показали отсутствие бактериальной ДНК штамма-хозяина в полученных препаратах (отсутствие сигнала со специфическими праймерами). Концентрация препарата ДНК была сопоставлена с коммерческими препаратами ДНК фага λ.

Для изучения ДНК фагов парагемолитических вибрионов лучше всего подходят праймеры 1, 2, Ap7, M13, OPLZ 13 и pUC/M13. Установлено, что использованные праймеры оказались способны амплифицировать последовательности хромосомной ДНК количеством от 21 до 1 и размером от 2356 до 100 п.н. Праймеры D9A, № 21 и WO оказались малоспецифичными (амплификаты или не были получены или их было мало).

При проведении RAPD-анализа ДНК холерных бактериофагов оказалось, что все четыре препарата холерных бактериофагов работают с универсальными праймерами. Результат амплификации

проявился в виде полос различного размера и интенсивности свечения. Информативнее всех оказались праймеры r45 и Ar7. Все препараты ДНК бактериофагов имели индивидуальную картину распределения амплификатов.

Итак, проведена генотипическая характеристика (паспортизация) каждого из изучаемых изолятов и выявлены отличия в генетической структуре бактериофагов, проявляющиеся в различной картине ПЦР ампликонов.

Таким образом, исследование показало возможность применения ОП-ПЦР для углубленной генотипической характеристики ДНК бактериофагов, что, возможно, позволит уточнить таксономию ряда новых фагов, имеющих сходный цикл развития, морфологию и антигенную структуру, и предложить новый подход к их классификации и идентификации.

Препараты подготовлены для дальнейшего исследования (полногеномного секвенирования).

ПОНОМАРЕВА А.С., ГЛАДКИХ А.С., МИРОНОВА Л.В.

МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ВОДОЕМОВ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ И ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ В МЕСТАХ ЕЖЕГОДНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ *VIBRIO CHOLERAЕ*

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Холерный вибрион способен существовать и размножаться как в кишечнике человека, так и в пресноводных и солоноватых водоемах. Согласно СП 3.1.1.2521-09 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации» в субъектах РФ мониторинг за возбудителем холеры в поверхностных водоемах проводится регулярно в установленные временные промежутки согласно типу территории. Ежегодное выделение микроорганизмов рода *Vibrio* в точках мониторинга стало основанием для углубленного изучения состава микробных сообществ с целью определения вероятных экологических условий персистенции вибрионов и раскрытия биоценологических взаимоотношений с представителями различных таксономических групп микроорганизмов в исследуемых водоемах. Появление методов параллельного секвенирования дало мощный инструмент к изучению микробного разнообразия и обеспечило возможность проведения метагеномных исследований.

Цель работы – определение качественного состава микроорганизмов, обитающих в точках ежегодного выделения холерного вибриона на территории Иркутской области и Забайкальского края.

Для анализа были взяты пробы воды в местах ежегодного выделения *Vibrio cholerae* в Забайкальском крае и Иркутской области. В Иркутской области это стационарные точки мониторинга на р. Ангара (Шишиловская протока; залив о. Юность; место сброса правобережных канализационных очистных сооружений; Чертугеевский залив) и р. Иркут (у автомобильного моста; напротив пос.

Горького). В Забайкальском крае исследованы пробы воды из оз. Кенон (пляж КСК; место сброса технических вод ГРЭС), р. Ингода (пос. Аэропорт, место сброса канализационных очистных сооружений) и р. Чита (ниже канализационно-насосной станции «Каштак»; устье ниже места сброса сточных вод города). Отбор проб воды осуществляли в течение лета 2015 г., две пробы из р. Ангара взяты весной того же года. Пробы отбирали с поверхности вблизи берега в наиболее застойных и прогреваемых участках в стерильные бутылки объемом 1 л. Материал концентрировали через систему стерильных поликарбонатных и нитроцеллюлозных фильтров, диаметром пор 5, 1,2 и 0,22 мкм. Далее выделяли тотальную ДНК и проводили амплификацию V4–V6 переменных участков 16S рРНК. Подготовку библиотек ампликонов и секвенирование производили по протоколам компании Roche на приборе GS Junior. Обработку данных осуществляли с помощью программы mothur v.1.39. Аннотацию полученных чтений проводили путем выравнивания на референсную базу последовательностей Silva. Кластеризацию в OTU (оперативные таксономические единицы) и оценку видового разнообразия проводили на уровне сходства 97 %. Также был произведен расчет коэффициентов видового богатства и разнообразия (Ace, Chao и Shannon). Кластерный анализ микробиомов произведен с помощью метода UPGMA (невзвешенного попарного среднего) с использованием коэффициента подобия образцов (коэффициент Jaccard).

В результате кластерного анализа наиболее близкие по таксономическому составу микробные сообщества объединились следующим образом: один кластер составили сообщества из р. Ангара,

отобранные весной в точках залив о. Юность и Шишиловская протока; сообщества, развивающиеся в июне и июле в р. Ангара (залив о. Юность), объединились во второй кластер, три микробиома из р. Иркут составили третий кластер, в четвертый вошли сообщества, отобранные в конце августа из р. Ангара (залив о. Юность и Чертугеевский залив Иркутского водохранилища). Сообщества, отобранные в течение июля–августа из р. Ангара в районе Шишиловской протоки так же оказались близки друг к другу и составили пятый кластер, шестой и седьмой кластер образовали микробиомы из водоемов Забайкальского края. Среди микробиомов, составляющих кластер, в соответствии с коэффициентом Chao (расчетное число OTU в образце) определены таковые с наибольшим микробным разнообразием. Среди же всех исследуемых микробиом из пятого кластера (р. Ангара, Шишиловская протока, время отбора – первая декада августа) характеризуется наибольшим видовым разнообразием – индекс Chao 311, что, вероятнее всего, определяет наличие комфортных условий для существования различных микроорганизмов. Наименьшее видовое разнообразие зафиксировано в одной из мартовских проб, что связано с низкой температурой воды и дефицитом питательных веществ, индекс Chao равен 123. Коэффициент Шеннона среди образцов колеблется в соответствии с уровнем разнообразия от 2,503 до 4,043.

Таксономический состав сообществ определяли на различных уровнях (филулы, классы и порядки). Среди проб первого кластера (весенние пробы из р. Ангара, залив о. Юность и Шишиловская протока) доминирует филум *Proteobacteria*, составляя до 77 % сообщества, следующие по представленности филулы – *Bacteroidetes* (11 %) и *Parcubacteria* (9 %). Среди *Proteobacteria* доля класса *Gammaproteobacteria*, в состав которого входят представители рода *Vibrio*, составляет 2 и 13 % от всех *Proteobacteria*. Во втором кластере (летние пробы из р. Ангара), доля *Proteobacteria*

уменьшается до 36 % в июньской и 23 % в июльской пробе и вместе с этим увеличивается представленность других филулов, 50 % сообщества июньской пробы составляют представители филулы *Bacteroidetes* (в основном это представители рода *Arcicella*), в июльской пробе 46 % сообщества – представители *Actinobacteria*, относящиеся к кладе *hgcl*, характерной для пресноводных экосистем (Liu J. et al., 2015). В микробных сообществах четвертого кластера преобладает так же клада *hgcl*. В кластерах, сформированных из сообществ воды Шишиловской протоки р. Ангара и р. Иркут, в зависимости от времени забора проб в ту или другую сторону происходит смещение в процентном соотношении филулов *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*; *Actinobacteridae*. Доля в сообществах представителей класса *Gammaproteobacteria* по сравнению с концом июля в первой декаде августа уменьшается, со второй декады происходит небольшое увеличение численности класса. Микробные сообщества из оз. Кенон Забайкальского края характеризуются доминированием фил.: *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*; *Actinobacteridae*, при этом доля *Bacteroidetes* и *Proteobacteria* многочисленнее в точке пляж КСК (по 36 %). Пробы из рек Забайкальского края (Чита и Ингода) характеризуются теми же доминантными филами, доля *Proteobacteria* больше в пробе из р. Ингода в месте сброса сточных вод (55 % микробного сообщества).

Таким образом, на примере отдельных водоемов, впервые получены подробные данные о составе микробных сообществ, развивающихся в местах ежегодного обнаружения холерного вибриона. Выявлено, что сообщества группируются по географическому критерию и претерпевают небольшие изменения в рамках одного сезона. Изучение микробных сообществ в местах ежегодного выделения холерного вибриона вносит вклад в понимание экологии и персистенции *Vibrio cholerae* в водных экосистемах и способствует определению участков риска.

ПРИСЛЕГИНА Д.А.

СОВРЕМЕННЫЕ КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И НОВЫЙ ПОДХОД К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Для эпидемиологического благополучия населения Ставропольского края серьезную угрозу представляет Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – особо опасная природно-очаговая

вирусная инфекция, ежегодно проявляющая свою активность на территории большинства административных районов края. Учитывая отсутствие специфической профилактики данного заболе-

вания, основное внимание должно быть уделено проведению неспецифических профилактических и противоэпидемических мероприятий, для целенаправленного планирования которых необходимо составление опережающего прогноза уровня заболеваемости КГЛ в соответствии с административно-территориальным делением территории. На сегодняшний день подобные многофакторные методики прогнозирования отсутствуют, в связи с чем, данная работа представляет несомненный научный и практический интерес.

С целью изучения современных клинко-эпидемиологических особенностей КГЛ в Ставропольском крае нами был проведен ретроспективный анализ карт эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания (форма N 357-у). Также в работе были использованы итоговые годовые материалы по заболеваемости КГЛ, предоставленные Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ставропольскому краю, результаты лабораторного исследования полевого материала, выполненные ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае» и гидрометеорологические данные, полученные из базы данных ФГБУ «ВНИИГМИ-МЦД» и архивов метеостанций.

Всего за исследуемый период (2012–2016 гг.) было выявлено 186 больных КГЛ (у одного из которых болезнь закончилась летально) на территории 23 из 32 административных образований края. Значительный рост заболеваемости – на 39,5 % отмечен в 2016 г. (43 случая в 2015 г., 60 – в 2016 г.).

В 2012–2015 гг. отмечалась типичная весенне-летняя сезонность заболеваемости с пиком в мае–июне, в 2016 г. последний случай КГЛ был выявлен в сентябре.

При анализе возрастной структуры заболеваемости КГЛ обращает внимание преобладание среди больных взрослого населения, преимущественно трудоспособного возраста (дети до 14 лет составили лишь 2 %). Заражение в большинстве случаев происходило инокуляционным или контаминационным путем при уходе за сельскохозяйственными животными или при выполнении полевых работ. В 2016 г. выявлено профессиональное внутрибольничное инфицирование медицинской сестры в результате биологической аварии – укола кисти руки с прокалыванием кожных покровов и мягких тканей иглой от катетера после проведения внутривенной инъекции больной КГЛ.

Большинство больных КГЛ (84,9 %) обратились за медицинской помощью в первые трое суток от появления первых симптомов заболевания, что свидетельствует о формировании достаточной настороженности в отношении КГЛ у жителей края в результате широко проводимых различными

способами информационно-разъяснительных мероприятий. В результате своевременной госпитализации и адекватно проводимой терапии тяжелые клинические формы наблюдались только у 11,8 % больных, а наличие геморрагического синдрома различной степени выраженности – у 18,3 % заболевших. Преимущественно регистрировалось среднетяжелое течение болезни (83,3 %). Летальный исход заболевания зарегистрирован в 2016 г. у 64-летнего больного, причина смерти – осложнение хронического сердечно-легочного заболевания в виде острой сердечно-сосудистой недостаточности.

Для прогнозирования эпидемической ситуации по КГЛ нами была разработана риск-ориентированная модель, созданная на основе математического метода – неоднородной последовательной статистической процедуры распознавания. Методика составления прогноза заболеваемости КГЛ включает пошаговое выполнение нескольких этапов, с получением одного из двух возможных результатов – «условно положительного» или «условно отрицательного» для каждого из них. Вначале для каждого административного района рассчитывается вероятность отсутствия случаев заболевания или появления хотя бы одного больного. Второй этап, для районов с полученным позитивным результатом, определяем вероятность появления более трех случаев заболевания КГЛ. Третий шаг – рассчитываем риск возникновения вспышки заболевания (появления более пяти больных КГЛ).

Предлагаемая нами методика прогнозирования учитывает все основные факторы (абиотические, биотические и социальные), влияющие на развитие эпидемического процесса КГЛ. Противоклещевые обработки пастбищ, природных биотопов и эпидемически значимых объектов, а также акарицидные обработки сельскохозяйственных животных в течение изучаемого периода проводились в достаточных объемах на территории всех административных районов Ставропольского края и при проведении исследования нами не учитывались. В качестве предикторов ухудшения эпидемиологической ситуации были рассмотрены ежемесячные показатели климатических факторов (температуры воздуха, относительной влажности воздуха, количества осадков, высоты снежного покрова, атмосферного давления, скорости ветра), эпидемиологические данные (количество больных КГЛ в предыдущем году и число населенных пунктов, в которых были зарегистрированы случаи заболевания КГЛ – данные сведения косвенно свидетельствуют об интенсивности циркуляции вируса КГЛ на исследуемой территории), а также результаты лабораторного исследования клещей на наличие маркеров вируса КГЛ. Для проверки точности модели были использованы значения указанных факторов риска

с 2011 по 2015 гг. для каждого административного района Ставропольского края. Пороговый уровень вероятности позитивного решения был выбран 99 % (вероятность ошибки 1 %). При анализе полученных данных отмечены высокая точность потенциальных результатов прогнозирования. Полученные два ложноотрицательных результата (1,6 %), которые можно считать действительно ошибочными, могут быть объяснены заносными случаями заболевания. Выявленные три ложноположительные (2,3 %) и три с несколько завышенным (на 1–2 случая) прогнозируемым числом больных (2,3 %) результаты могут являться следствием недостаточной диагностики ввиду превалирования в последние годы форм КГЛ без геморрагического синдрома.

Таким образом, проблема Крымской геморрагической лихорадки на территории Ставропольского края имеет особую актуальность и диктует необходимость постоянного контроля проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий (в первую очередь обеспечения готовности лечебно-профилактических организаций к проведению лабораторной диагностики и своевременному оказанию квалифицированной медицинской помощи больным) целенаправленное планирование которых может быть научно обосновано при использовании результатов работы предлагаемой нами риск-ориентированной многофакторной модели прогнозирования уровня заболеваемости КГЛ.

ПЯТИДЕСЯТНИКОВА А.Б., БАРАННИКОВА Н.Л., ЮРЬЕВА О.В., ДУБРОВИНА В.И.

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТАМИ *BRUCELLA ABORTUS* И-206 В S- И L-ФОРМАХ

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Исследования новых препаратов для профилактики бруцеллеза остаются актуальными, так как живые вакцины, используемые в данное время, обладают остаточной вирулентностью и реактогенностью. Интерес представляет изучение реактогенных и иммуногенных свойств слабовирулентных бруцелл в L-форме для дальнейшего их использования в конструировании вакцинных препаратов.

Большое внимание при изучении свойств новых иммунобиологических препаратов уделяют поствакцинальным реакциям организма: алергизации и интоксикации. Ассоциированным биохимическим процессом с этими реакциями является окислительный стресс. Развивается он в следствии повышенной генерации активных форм кислорода (АФК) клетками. При осложнении вакцинального процесса, повышенная продукция АФК клетками может привести к аллергическим и воспалительным реакциям, в основе которых лежит процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ). Перекисные производные ненасыщенных жирных кислот клеточных мембран участвуют в биосинтезе простагландинов и лейкотриенов (медиаторов воспаления и аллергических реакций). При увеличении количества АФК в макроорганизме мобилизуется множество механизмов, в которые входят ферменты, утилизирующие H_2O_2 . При нормальном течении вакцинального

процесса патогенное влияние АФК должно быть нейтрализовано активированной антиоксидантной системой, в том числе, утилизирующими перекись ферментами. В случае недостаточного количества антиоксидантных компенсаторных ресурсов, ПОЛ может привести к дестабилизации клеточных мембран и последующим патологическим процессам. При патологических тяжелых формах интоксикации, активация ПОЛ происходит на фоне угнетения антиоксидантной защиты клеток, поэтому изменение антиоксидантного статуса иммунизированного организма является важным показателем реактивности антигенных препаратов.

Целью работы является изучение влияния экспериментальных препаратов бруцелл в S и L-формах на перекисное окисление липидов и перекись разрушающую активность, как показатель антиоксидантного статуса в органах подопытных животных.

В работе были использованы беспородные сертифицированные морские свинки (НПО «Вектор») обоего пола весом 250–300 г. Все работы с лабораторными животными проводились согласно требованиям «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755 и Приложения к Приказу Министерства здравоохранения и социального

развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н.

Животных иммунизировали антигенными препаратами *Brucella abortus* И-206, полученными методом терморэкстракции (ТЭ) из штамма *B. abortus* И-206 в S- и L-форме, в дозе 20 мкг (в пересчете на белок). Препараты диализировали против дистиллированной воды, замораживали в жидком азоте и лиофилизировали.

Для вакцинации также был использован живой вакцинный штамм *B. abortus* 19 ВА как положительный контроль, обладающий выраженной реактивностью. На 1, 3, 7 и 14 сутки после иммунизации у животных забиралась печень, селезенка и почки. Из органов готовили гомогенаты и определяли содержание маркера ПОЛ МДА и перекись разрушающую активность, как показатель антиоксидантного статуса.

Малоновый диальдегид определяли по методу, описанному Т.И. Рахмановой с соавторами (2009). Метод основан на способности МДА в кислой среде, при высокой температуре, реагировать с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметилового комплекса, который имеет максимум поглощения при длине волны 532 нм.

Перекись разрушающую активность определяли по методу Королюка М.А. с соавторами (1988). Данный метод основан на способности молибдата аммония с H_2O_2 формировать окрашенный комплекс (максимум поглощения при длине волны 410 нм).

Была изучена динамика образования маркера перекисного окисления липидов МДА и перекись разрушающей активности в гомогенатах из органов (печени, селезенки) морских свинок, иммунизированных ТЭ L- и S-форм *B. abortus* И-206. Высокий уровень МДА выявлен в органах животных, иммунизированных живой вакциной *B. abortus* 19 ВА. Перекись разрушающая активность оставалась на уровне контрольного. Повышение концентрации МДА на фоне низкой перекись разрушающей активности говорит о высоком цитопатогенным эффекте *B. abortus* 19 ВА.

ТЭ бруцелл в S-форме вызывал более слабую, но значительную реакцию. В сравнении с живой вакциной, содержание МДА в группе иммунизированных ТЭ бруцелл в S-форме к 14 суткам

снижалось, а значение перекись разрушающей активности в этой группе превышало контрольное значение более чем в 2 раза. ТЭ бруцелл в S-форме проявлял антиоксидантную систему для вакцинного препарата, но не угнетал, как живая вакцина.

ТЭ L-формы бруцелл в меньшей степени, чем ТЭ S-формы влиял на накопление МДА. В данной группе перекись разрушающая активность возрастала после иммунизации только в печени, концентрация МДА тоже увеличивалась. К 14 суткам концентрация МДА и перекись разрушающая активность в печени вакцинированных препаратом бруцелл в L-форме животных снижалась почти до контрольного значения. Можно сделать заключение, что ТЭ бруцелл в L-форме обладает самой низкой реактогенностью среди 2-х изученных препаратов. Высокая реактивность препарата из бруцелл в S-форме, очевидно, связана с наличием в его составе липополисахарида.

Наиболее активное ПОЛ происходит в почках у всех групп животных. Связанно это с выделительной и фильтрующей функцией почек. Самая высокая перекись разрушающая активность обнаружена в селезенке, что, вероятнее всего, связано с активностью фагоцитирующих клеток и, соответственно более высоким антиоксидантным потенциалом, чем у других исследованных органов.

Важно отметить, что в органах (печени, селезенке и почках) морских свинок, иммунизированных препаратом из бруцелл в S-форме, активируется ПОЛ и перекись разрушающая активность. В сравнении с живой вакциной *B. abortus* 19 ВА, препарат из бруцелл в S-форме не подавляет антиоксидантный статус организма.

Таким образом, препарат из бруцелл в L-форме обладает более низкой реактогенностью по сравнению с ТЭ в S-форме. Кроме того, ТЭ в L-форме активирует антиоксидантную систему макроорганизма морских свинок и нейтрализует повреждающее действие активных форм кислорода в большей степени, чем в S-форме. Данное обстоятельство свидетельствует о необходимости дальнейшего комплексного исследования действия ТЭ бруцелл в L-форме на клетки макроорганизма в качестве перспективного компонента для создания экспериментального вакцинного препарата.

ВЛИЯНИЕ ВИБРАЦИИ НА ЗДОРОВЬЕ МЕХАНИЗАТОРОВ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

ФБУН Саратовский научно-исследовательский институт сельской гигиены Роспотребнадзора,
Саратов

Вибрация является одним из важных физических факторов, оказывающих значительное влияние на здоровье работников аграрного сектора, поскольку современное сельское хозяйство немислимо без механизированного труда. На сегодняшний день обновление парка современной отечественной и импортной техникой, оборудованной герметичными кабинами с кондиционерами и эргономичной конструкцией рабочих мест, идет крайне медленно из-за низкой платежеспособности сельскохозяйственных предприятий. По данным Министерства сельского хозяйства Российской Федерации коэффициент обновления сельскохозяйственной техники за три предыдущих года составил в среднем 3,5 % в год от общего парка техники.

Механизаторы сельского хозяйства являются наиболее распространенной и квалифицированной профессиональной группой сельского хозяйства, а их условия труда определяются, главным образом, техническими характеристиками и состоянием используемого машинно-тракторного парка, который в настоящее время на 60–75 % состоит из морально устаревшей и физически изношенной техники старых образцов. При эксплуатации сельскохозяйственной техники механизаторы в той или иной степени подвергаются воздействию многих факторов: повышенные уровни шума, общей и локальной вибрации; неблагоприятный микроклимат, высокие тяжесть и напряженность труда, химические вещества в воздухе рабочей зоны, аэрозоли преимущественно фиброгенного действия. Все они могут выступать в роли триггеров при формировании профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний.

В данной работе представлена оценка вибрационного фактора риска развития профессиональной патологии у механизаторов сельского хозяйства на основе комплексной гигиенической характеристики условий труда, а так же уровня и структуры профессиональной заболеваемости.

Задачи исследования:

1. Дать гигиеническую оценку вибрации, действующей на механизаторов сельского хозяйства.
2. Провести структурный анализ профессиональной заболеваемости механизаторов сельского хозяйства в условиях современного сельскохозяйственного производства.

При проведении гигиенических исследований было выявлено, что условия труда при работе на

мобильной сельскохозяйственной технике старых образцов характеризуется сочетанным воздействием вредных факторов производственной среды и трудового процесса.

Это повышенные уровни шума, общей и локальной вибрации, а также неблагоприятные микроклиматические условия, загрязненность воздуха рабочей зоны пылью и выхлопными газами.

Ведущими неблагоприятными факторами являлись шум и вибрация. Неблагоприятное воздействие вибрации усугубляется воздействием повышенных уровней шума. Общая вибрация в кабинах исследуемой техники широкополосная с превышением ПДУ до 17 дБ. В кабинах гусеничных тракторов ДТ-75 и ДТ-75С и до 7 дБ в кабинах зерноуборочных комбайнов старых образцов СК-5М «Нива», Дон-200 и Дон-1500.

Наименьшие значения вибрации (менее ПДУ) зарегистрированы в кабинах комбайнов нового поколения РСМ-101 «Vector» и РСМ «Acros».

Частотный анализ уровней общей вибрации показал, что по своему характеру вибрация широкополосная, с превышением ПДУ по оси Z на частотах от 1 до 16 Гц, и по осям X и Y от 1 до 4 Гц на технике новых образцов; на технике старых образцов превышения ПДУ были отмечены по оси Z на частотах от 1 до 63 Гц, и по осям X и Y от 1 до 16 Гц.

В результате анализа профессиональной заболеваемости работников сельского хозяйства Саратовской области установлено, что 70 % профпатологии на протяжении последних 10 лет принадлежит механизаторам сельского хозяйства.

За период с 2000 по 2016 г. на территории Саратовской области уровень профессиональной заболеваемости среди механизаторов сельского хозяйства был стабильно высоким по сравнению с общеотраслевым (1,52–5,85 на 10000 работающих в сельском хозяйстве РФ) и составлял по разным годам наблюдения от 25,3 до 55,3 на 10000 механизаторов. Средний возраст механизаторов сельского хозяйства с первично установленным диагнозом профессионального заболевания составил 49 лет. В 73,4 % случаев профессиональные заболевания развивались у лиц, проработавших в контакте с вредными производственными факторами от 10 до 30 лет.

В структуре накопленной профессиональной заболеваемости первое ранговое место занимали

вертеброневрологические заболевания – 40,2 % (пояснично-крестцовая радикулопатия); второе – заболевания органов дыхания – 19,3 % (хроническая обструктивная болезнь легких, хронический пылевой необструктивный бронхит, бронхиальная астма); третье – вибрационная болезнь – 18,1 %; четвертое – нейросенсорная тугоухость – 15,6 %; пятое – заболевания опорно-двигательного аппарата – 6,8 %.

Выводы

1. В процессе трудовой деятельности механизаторы сельского хозяйства подвергаются воздействию вредных производственных факторов.
2. Уровни вибрации классифицируются как вредные условия труда 1–3 степени (классы 3.1–3.3).
3. Профессиональная патология механизаторов сельского хозяйства на 65 % обусловлена воздействием вибрации.

РЕБЕЩЕНКО А.П., КАТАЕВА Л.В.

ВИДОВОЙ ПЕЙЗАЖ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭНТЕРОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В УЧРЕЖДЕНИЯХ РОДОВСПОМОЖЕНИЯ г. ТЮМЕНИ

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»
Роспотребнадзора,
Тюмень

Несмотря на то, что энтерококки являются частью нормальной микрофлоры и широко применяются в пищевой промышленности и при приготовлении биопрепаратов, они все чаще рассматриваются как одни из важнейших возбудителей нозокомиальных инфекций. По данным зарубежных авторов особенно часто такие инфекции развиваются у новорожденных (до 10 % от числа всех бактериальных неонатальных инфекций). При этом, они протекают особенно тяжело и часто приводят к развитию бактериемии и сепсиса. От 20–25 до 46 % случаев энтерококковой бактериемии у новорожденных заканчивается летальным исходом.

Исследования проводились на базе ГБУЗ ТО «Родильный дом № 2» и «Родильный дом № 3», ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 2» – отделение патологии новорожденных (ОПН) и отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТ) г. Тюмени. Проведена видовая идентификация 123 изолятов энтерококков (*Enterococcus faecalis* – 104, *Enterococcus faecium* – 19), выделенных из промывных вод бронхов, слизистых зева, кожи пупочного остатка, кала, мочи, молочных желез и рук родильниц.

Видовую и штаммовую идентификацию бактерий осуществляли по прямому белковому профилированию с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (масс-спектрометр MALDI-ToF MS серии Microflex LT) с использованием программного обеспечения Maldi BioTyper 3.0. Уровень достоверности идентификации выше 2,0 свидетельствовал о точной видовой идентификации.

Распределение выделенных энтерококков по штаммоспецифичности (классификация электрон-

ной базы Maldi Biotyper) показало следующие результаты. Среди изолятов *E. faecalis* преобладали штаммы DSM 20409 DSM – 39,8 % и DSM 6134 DSM – 18,7 %. Гораздо реже встречались штаммы 20247_4 CHB – 8,9 %, ATCC 7080 THL и ATCC 29212 CHB по 5,7 %. Единичные изоляты отнесены к DSM 20478T JUG 104575 LDW и DSM 20371 DSM по 1,6 %, DSM 2570 DSM – 0,8 %. Доля *E. faecium* в общей структуре составила DSM 17050 DSM – 4,1 %, 11037 CHB – 11,4 %.

Антибиотикорезистентность энтерококков определялась к бензилпенициллину, ампициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину, ванкомицину, стрептомицину, гентамицину диско – диффузионным методом.

Резистентностью высокого уровня обладали штаммы *E. faecalis* DSM 20409 DSM и 20247_4 CHB: к стрептомицину (97,8/90,9 %), тетрациклину (80/81,8 %), ципрофлоксацину (55,6/54,5 %) соответственно. Причем, по сравнению со штаммом DSM 20409 DSM штамм 20247_4 CHB устойчив к офлоксацину более чем в 3 раза. *E. faecalis* DSM 6134 DSM имеет другой спектр устойчивости к химиопрепаратам. Так, у 71,4 % штаммов DSM 6134 DSM обнаружена устойчивость к гентамицину и бензилпенициллину.

Штаммы *E. faecium* отличает высокая устойчивость ко всем группам антибиотиков, исключение составили антибиотики пенициллинового ряда (ампициллин) и макролиды (ванкомицин).

Хочется отметить, что большинство *E. faecium* было выделено из биотопов детей, находящихся на втором этапе выхаживания новорожденных. Ряд факторов, таких как селективное давление противомикробных препаратов на популяцию бактерий (в организме и во внешней среде), агрессия лечебно-

диагностического процесса, активизирующая, главным образом, искусственный механизм передачи инфекции, теснота и продолжительность общения больных между собой и с персоналом, нарушение правил личной гигиены, прежде всего мытья рук при контакте персонала с больными, приводит к переходу «диких» штаммов в один и или несколько гомогенных штаммов, обладающих селективными преимуществами выживания, в том числе и в экстремальных условиях больничной среды, способных вызывать манифестные формы инфекции.

угрозу формирования резистентных штаммов и возникновения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи.

Проведенное исследование показало, что метод масс-спектрометрии позволяет высокоэффективно и точно идентифицировать бактерии до вида. Вместе с тем, анализ спектров белков исследуемых штаммов в соответствии с электронной базой Maldi Biotyper выявляет факторы специфической резистентности и вирулентности микроорганизмов, что свидетельствует о штаммоспецифичности. Исследование штаммоспецифичности энтерококков, циркулирующих в конкретных медицинских организациях, позволит своевременно оценивать

РЫКОВСКАЯ О.А., ПОЛЕЕВА М.В., ЧЕМИСОВА О.С.

ИЗУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТА ТЕРМОСТАБИЛЬНОГО ПРЯМОГО ГЕМОЛИЗИНА (TDH) *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Парагемолитические вибрионы – галофильные микроорганизмы, обитающие в прибрежных морских и эстуарных водах. Употребление человеком в пищу морепродуктов, контаминированных этими микроорганизмами, ведет к возникновению спорадических случаев или эпидемических вспышек острого кишечного заболевания, протекающего по типу пищевой токсикоинфекции (ПТИ). Установлено, что подавляющее число штаммов *Vibrio parahaemolyticus*, выделенных от больных, Канагава-позитивны (КР⁺), т.е. образуют зону β-гемолиза на специальном кровяном агаре Вагатцума. Этот феномен обусловлен термостабильным прямым гемолизинем (TDH – thermostable direct hemolysin), который детерминирован двумя генами – *tdh1* и *tdh2*. Канагава-отрицательные (КР⁻) штаммы лишены этих генов и обнаруживаются, как правило, в окружающей среде. Целью данной работы явились изучение и анализ препарата бактериального токсина термостабильного прямого гемолизина (TDH) *V. parahaemolyticus* методом MALDI-ToF масс-спектрометрии.

Для получения препарата термостабильного прямого гемолизина использовали *tdh+trh*- штаммы *V. parahaemolyticus* 958, 16695, 17715, взятые из коллекции Музея живых культур с Центром патогенных вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Препарат термостабильного прямого гемолизина получали из бульонных культур указанных штаммов. Культуру, выращенную в бульоне Ва-

гатцума, центрифугировали при 10 000 об\мин в течение 20 минут. Культуральную жидкость обеззараживали мертиолятом натрия, к обеззараженной культуральной жидкости добавляли сульфат аммония (СА) до концентрации 150 мМ и Трис-НСl pH – 7,0 до 50 мМ. Очистку токсина проводили на FPLC Pathfinder Duoflow Bio-Rad. Культуральную жидкость наносили на колонку с матрицей для ХОФ (хроматография в обращенной фазе) Butyl Toyoparal 650M. Затем промывали буфером 150 мМ СА и 50 мМ Трис-НСl pH 7,0. Токсин элюировали снижающимся градиентом СА от 150 до 0 мМ. Фракции, содержащие токсин (их отбирали по гемолитической активности), объединяли и наносили на колонку UNO-Q6 Bio-Rad, уравновешенную 50 мМ Трис-НСl pH 7,0, затем промывали, а токсин элюировали повышающимся градиентом хлорида калия от 0 до 1 М. Фракции, содержащие токсин объединяли, диализовали против забуференного физиологического раствора, измеряли количество белка. Полученный препарат содержал 100 мкг/мл белка.

Изучение токсина проводили методом MALDI-ToF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Autoflex-speed Bruker Daltonics (Германия) с программным обеспечением Biotyper. В исследование были взяты термостабильный прямой (TDH) гемолизин *V. parahaemolyticus*, а также культуральные жидкости штаммов *V. parahaemolyticus tdh+tdh*- из коллекции Музея живых культур с Центром патогенных вибрионов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. В качестве матрицы была использована α-циано-гидроксикоричная кислота. Снятие белковых спектров проводили в програм-

ме Flex Control в диапазоне 2000–20000 m/z, а их обработку в программе Flex Analysis. В результате наших исследований были выявлены пики с m/z 2452,4 ± 5,0 и 4911,1 ± 3,0 и 7517,7 ± 5,0, которые соответствуют полученному нами токсину TDH. Экспериментально была показана возможность оценки наличия неспецифических примесей

белков клетки-хозяина и других гетерологичных белков (например, компонентов питательной среды). Также метод MALDI-ToF масс-спектрометрии оказался эффективным при определении стабильности полученной фракции белков в процессе хранения.

Таким образом, в результате наших исследований показана возможность использования метода MALDI-ToF масс-спектрометрии для изучения токсинов бактериальной природы.

САВЕЛЬЕВА И.В., КУЛИЧЕНКО А.Н.

ХОЛЕРА ЭЛЬ ТОР НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ: МИРОВОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ЭВОЛЮЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ, КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ СОБЕННОСТИ, ЛАБОРАТОРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

Седьмая пандемия холеры, начавшаяся на о. Сулавеси (Индонезия) в 1961 г., в настоящее время характеризуется интенсивными проявлениями инфекции в Африке, Азии и в Карибском бассейне на Гаити с высокой вероятностью выноса инфекции вследствие возрастающей активности миграции населения в другие страны, в том числе и в Россию.

Основным возбудителем седьмой пандемии на протяжении более тридцати лет являлся *Vibrio cholerae O1 biotype El Tor*, геном которого содержит гены оперона *ctxAB*, кодирующие синтез термостабильного экзотоксина (СТ-2) – главного патогенетического фактора холеры. Типичные токсигенные вибрионы Эль Тор (*V. cholerae O1 biotype El Tor, Hly⁻, ctxA⁺*), устойчивые к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды за счет присутствия в их геноме островков персистенции (EPI), патогенности (VPI-I,II) и пандемичности (VSP-I,II), были этиологическим фактором холеры в Азии (1961–1969 гг.), в Азии, Африке, Европе, США, Океании (1970–1980 гг.), в Азии, Африке, Европе, США, Океании, Австралии (1981–1990 гг.).

В начале 90-х годов прошлого столетия штаммы холерного вибриона биовара Эль Тор с генотипическими признаками классического биовара, продуцирующие классический тип энтеротоксина (СТ-1), стали доминантными этиологическими агентами современного этапа развития седьмой пандемии холеры Эль Тор, а в первые два десятилетия XXI века получили глобальное распространение в мире. Геноварианты биовара Эль Тор оказались значительно вирулентнее типичных изолятов того же биовара вследствие

повышенной продукции более токсичного для человеческого организма энтеротоксина классического типа (СТ-1), что клинически проявляется тяжелым течением холеры с высокими показателями смертности – до 20 % от числа заболевших. В России завозные случаи холеры, обусловленные геновариантами биовара Эль Тор, регистрировались в 1993 г. – завоз холеры в Дагестан из Пакистана; в 1994 г. – в Дагестан паломниками, совершавшими хадж в Мекку; в 1998 г. – в Дагестан из Азербайджана; в 1999 г. – в Приморский край и на Сахалин из Китая; в 2010, 2012, 2014 гг. – авиарейсом из Индии в Москву. Этиологический фактор завозной холеры был в то время идентифицирован как типичный токсигенный холерный вибрион биовара Эль Тор.

Цель работы – изучение и анализ биологических, молекулярно-генетических свойств измененных вариантов холерного вибриона биовара Эль Тор и клинико-эпидемиологических особенностей обусловленной ими холеры на Кавказе; совершенствование лабораторного обеспечения эпидемиологического надзора за современной холерой.

Биологические свойства и молекулярно-генетическая структура ДНК в ПЦР-анализе изучена у 246 штаммов холерных вибрионов, выделенные в 1970–2014 гг. от больных холерой на Кавказе, в Москве, в Мариуполе (Украина). Проведен клинико-эпидемиологический анализ 237 историй болезни больных холерой и вибрионосителей из очагов холеры, обусловленной геновариантами биовара Эльтор.

Установлено, что независимо от места и времени изоляции (Дагестан, 1993–1998 гг.; Приморский край и Сахалин, 1999 г.; Москва, 2010–2014 гг.) генетически измененные холерные вибрионы биовара Эль Тор таксономически относятся к роду

Vibrio семейства *Vibrionaceae*, виду *Vibrio cholerae* O1 серологической группы серовару Ogawa или Inaba. При этом, если типичные токсигенные холерные вибрионы O1 серологической группы, выделенные в 1970–1990 гг. на территории России, фенотипически были биоваром Эль Тор, то часть (57,9 %) генетически измененных вариантов имели смешанные фенотипические признаки биовара Эль Тор и классического, что делает невозможным отнести изучаемые штаммы холерных вибрионов к определенному биовару. Очевидно, в существующую схему биотипирования необходимо включить маркерные гены биовара Classical (*ctxBCI*, *rstRCI*) и биовара Эль Тор (*ctxBEI*, *rstREI*, *rstC*).

Молекулярно-генетический анализ измененных вариантов биовара Эль Тор показал, что эволюционные преобразования типичного токсигенного биовара Эль Тор в геновариант сопровождались изменениями структуры генов токсигенности коровой области профага СТХφ и профага RS1φ. Так, изучаемые гибридные варианты биовара Эль Тор в своем геноме содержат, помимо эльторовских, гены классического биовара (*ctxBCI* и/или *rstRCI*), а также, как и типичные токсигенные холерные вибрионы Эль Тор, острова персистенции (EPI), патогенности (VPI-1,2) и пандемичности (VSP-1,2), но только у геновариантов биовара Эль Тор обнаруживался интегративный и конъюгативный элемент SXT с генами полирезистентности к антибиотикам.

Процесс инфекционного заболевания, в том числе и холеры, обусловлен специфическими свойствами возбудителя, которые напрямую связаны с эволюционными изменениями молекулярно-генетической организации типичных холерных вибрионов биовара Эль Тор: замена аллеля В3 в опероне *ctxAB* на аллель В1 привела к большей и качественно иной продукции основного патогенетического фактора болезни – холерного энтеротоксина (СТ1, вместо СТ2). Вследствие этого эпидемические вспышки холеры, обусловленные геновариантами биовара Эль Тор, имевшие место в Дагестане (1993–1998), во Владивостоке (1999 г.), в Украине (1994, 2011 гг.), характеризовались преобладанием тяжелых форм течения болезни с выраженным обезвоживанием (III–IV степень), которая отмечена соответственно типичные токсигенные и генетически измененные варианты методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов.

у 49,15–65,2–68,8 % больных, то есть холера, обусловленная геновариантами холерного вибриона биовара Эль Тор по своему течению соответствует классической (азиатской) холере.

Источником холеры, обусловленной типичными или геновариантами холерного вибриона биовара Эль Тор, является человек. Механизм заражения един – фекально-оральный. Однако основной путь реализации этого механизма для типичного холерного вибриона Эль Тор – водный (97,0 % в г. Ставрополе в 1990 г. и 80,0 % в Дагестане в 1970–1981 гг.), а для геноварианта Эль Тор – контактно-бытовой (58,3 % в Дагестане в 1994 г.). Первичные заражения при употреблении для питья и хозяйственно-бытовых нужд воды поверхностных водоемов, зараженных типичными вибрионами Эль Тор, реализуются за пределами семейного очага. При холере, вызванной гибридными вариантами Эль Тор, осуществляется занос инфекции в семью с последующим распространением среди ее членов при реализации бытовых факторов передачи в условиях низкого санитарного уровня проживающего населения, свидетельством чего являются находки гибридного варианта Эль Тор в очагах в смывах с кухонного стола, умывальника, унитаза, ручек дверей туалета, что способствует значительному проценту формирования очагов с двумя и более случаями заболеваний.

Эволюционные преобразования генома возбудителя холеры, начавшиеся в девяностые годы прошлого столетия, продолжают, в связи с чем, программа эпидемиологического надзора должна включать постоянный молекулярно-генетический мониторинг за изменениями генома холерных вибрионов, обнаруживаемых у человека или в объектах окружающей среды, что позволит своевременно прогнозировать появление новых геновариантов холерного вибриона с продукцией холерного энтеротоксина. С этой целью в ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора разработана и рекомендована к применению на учрежденческом уровне ПЦР-тест-система «Гены *Vibrio cholerae* O1 вариант *ctxB*–*rstR*–*rstC*, РЭФ», позволяющая идентифицировать штаммы *Vibrio cholerae* O1 с определением биовара и дифференцировать биовар Эль Тор на

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДХОДОВ К КОНСТРУИРОВАНИЮ САПНОГО ЭРИТРОЦИТАРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО МОНОКЛОНАЛЬНОГО ДИАГНОСТИКУМА

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Сап – особо опасная инфекция людей и животных, этиологическим фактором которой выступает *Burkholderia mallei* – возбудитель II группы патогенности (опасности). Более того, *B. mallei* общепризнан как возможный агент биотеррористических атак.

В настоящее время с увеличением миграции населения и увеличением международных контактов возрастает вероятность завоза микроорганизма из эндемичных очагов (некоторые районы Африки, Центральной и Южной Америки, Турции, Ирана, ОАЭ, Афганистана, Китая, Монголии и др.).

Естественным резервуаром возбудителя сапа в природе являются преимущественно непарнокопытные млекопитающие – лошади, мулы и ослы. Инфицирование человека происходит через поврежденную кожу при контакте с больными животными. Заболевание протекает с образованием множественных кожных пустул, которые преобразуются в некротизирующиеся кратерообразные язвы. Антибиотикотерапия часто неэффективна, и при генерализации инфекции возможен неблагоприятный исход.

В схеме лабораторной диагностики особое значение приобретают экспресс-методы, которые существенно сокращают время получения результата, тем самым, позволяя раньше приступить как к лечению больных, так и проведению противоэпидемических мероприятий. Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) за счет экономичности, доступности и простоты выполнения нашла широкое распространение в лабораторной практике. До настоящего времени эритроцитарные диагностикумы для РНГА изготавливают на основе поликлональных иммуноглобулинов сывороток лабораторных животных. Согласно последним данным, *B. mallei* – эволюционная ветвь *B. pseudomallei*, у которого произошли селективное сокращение и делеция генома. Общность антигенных характеристик возбудителей сапа и мелиоидоза, как правило, не позволяет с помощью препаратов поликлонального происхождения проводить их видовую дифференциацию. В свою очередь, моноклональные антитела (МКА) демонстрируют ряд преимуществ в силу своей уникальной направленности к индивидуальным эпитопам микроорганизма, в связи с чем, нередко замена поликлонального сырья на моноклональное позволяет получить видоспецифичные иммунодиагностические средства.

Целью исследования явилось использование панели сапных моноклональных антител при разработке эритроцитарного иммуноглобулинового диагностикума.

МКА к возбудителю сапа получали путем химической гибридизации с помощью полиэтиленгликоля клеток миеломы X63-Ag 8.653 и иммунных спленоцитов мышей BALB/c – продуцентов антител, направленных к поверхностным клеточным антигенам *B. mallei* 10230. Отбор клонов осуществляли по результатам ИФА одновременно с использованием в качестве сенситина антигенных взвесей возбудителей сапа и мелиоидоза. МКА накапливали *in vivo* в брюшной полости инбредных мышей, предварительно праймированных при станом. Фракцию иммуноглобулинов из асцитической жидкости выделяли методом двукратного переосаждения насыщенным раствором сульфата аммония. Изотипирование сапных МКА проводили с помощью тест-набора (Sigma, США). С целью формирования стабильной агглютинационной решетки использовали смесь сапных моноклональных IgG-антител (IgG1, IgG2a, IgG2b) в эквивалентных соотношениях. В качестве биологического носителя выступали эритроциты барана, которые перед проведением пробной сенсибилизации в дозах 10, 20, 40 и 80 мкг/мл подвергали формалинизации (Weinbach R. в модификации Меньшова-Шмутера) и танизации (Boyden S.V.) с целью повышения их сорбционных свойств. За оптимальную сенсибилизирующую дозу (ОСД) принимали такое разведение сенситина, при котором диагностикум демонстрировал наиболее высокую чувствительность при четких отрицательных контролях. Для приготовления основной серии препарата использовали двойную ОСД (40 мкг/мл). Такой подход к конструированию эритроцитарного диагностикума позволил избежать перекрестных реакций между близкородственными возбудителями сапа и мелиоидоза и разработать видоспецифичный препарат.

Нами получено 3 серии сапного эритроцитарного иммуноглобулинового моноклонального диагностикума. Аналитические характеристики препарата изучали в РНГА на наборе штаммов возбудителей сапа, мелиоидоза, а также ряда близкородственных и гетерологичных микроорганизмов, представленных в лаборатории коллекционных штаммов ФКУЗ Волгоградский научно-исследо-

вательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Чувствительность по отношению к штаммам возбудителя сапа (*B. mallei* 8, 11, 37, 5584, 10230, Богор, Будапешт, Загреб, Муксувар, Ц-4, Ц-5, В-120, Z-12) составила $2,5 \times 10^6$ м.к./мл, а в некоторых случаях достигала $7,8 \times 10^4$ м.к./мл. С набором коллекционных штаммов возбудителя мелиоидоза (*B. pseudomallei* 97, 109, 51274, 56738, 56830, С-141) в дозах до 2×10^7 м.к./мл в РНГА положительных результатов не выявлено (лишь несколько штаммов давали слабо положительную реакцию в дозе 4×10^7 м.к./мл), что подчеркивает видоспецифичность полученного диагностикума. С условно-патогенными близкородственными культурами

буркхольдерий (*B. cepacia* АВ 1934, *B. thailandensis* 251, *B. pseudoaligenes* ВКМВ-1300, *B. gladioli* 8495) и псевдомонад (*P. aeruginosa* PAO-1, *P. fragii* 4002, *P. ovalis* ВКМВ-899, *P. putida* 1608) геммагглютинации отмечено не было.

Препарат успешно прошел контрольные межлабораторные испытания на наборе чистых культур микроорганизмов, представленных в ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. В дальнейшем планируются работы по изучению эффективности сапного эритроцитарного иммуноглобулинового моноклонального диагностикума при исследовании зараженного биологического материала, после чего возможно его внедрение в производство.

САВЧЕНКО А.П., ПИЧУРИНА Н.Л., ЗАБАШТА М.В., ОРЕХОВ И.В., РОМАНОВА Л.В.,
БОРОДИНА Т.Н.

СУЩЕСТВОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ИНФЕКЦИЙ НА УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ (НА ПРИМЕРЕ ИКСОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА)

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

На сегодняшний день мониторинг за природно-очаговыми инфекциями на территории г. Ростова-на-Дону осуществляется в 12 точках стационарного наблюдения, расположенных в разных районах города. Это дает возможность составить объективную информационную картину о наличии и циркуляции возбудителей природно-очаговых болезней в черте города. Нами проводится динамический учет и уточнение видового разнообразия возможных носителей и переносчиков, что является необходимым и актуальным, ввиду изменения границ города и в рамках пользования его территориями. За период многолетних наблюдений в объектах полевого материала были обнаружены антигены возбудителей Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ), клещевого энцефалита (КЭ), лихорадки Западного Нила (ЛЗН), геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС); выявлена ДНК возбудителей иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), туляремии, моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ), гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ).

Стационары многолетнего наблюдения расположены в следующих районах г. Ростова-на-Дону: один – в Кумженской роще; пять – в левобережной зоне; четыре – в пойме реки Темерник; один – в районе Пороховой балки; один – в Щепкинском лесном хозяйстве. За 2016 г. в эти районы совер-

шено 52 полевых выезда. Суммарная площадь обследованной территории – 120 км², отработано 1000 ловушко/суток, пройдено 450 флагов/километров. Собрано 832 экз. пяти видов четырех родов иксодид: *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus rossicus*, *Hyalomma marginatum*. Отловлено 129 экз. семи видов семи родов четырех семейств млекопитающих: *Apodemus uralensis*, *Mus musculus*, *Microtus arvalis*, *Rattus norvegicus*, *Lepus europaeus*, *Nyctalus noctula*, *Pipistrellus kuhlii*. Добыто 14 экз. четырех видов трех семейств птиц: *Coloeus monedula*, *Pica pica*, *Hirundo rustica*, *Sturnus vulgaris*.

Собранный полевой материал был исследован на наличие этиологических агентов ИКБ. Исследования проведены с использованием набора реагентов GenePak DNA PCR test для обнаружения ДНК *Borrelia* sp. (*burgdorferi*+*garinii*+*afzelii*) и генов видов *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* в полимеразной цепной реакции (ПЦР), производства ООО «Лаборатория Изоген», Москва. При обнаружении ДНК *Borrelia* sp. (*burgdorferi*+*garinii*+*afzelii*) в пробах клещей для выявления геновида ставили ПЦР с наборами реагентов DNA PCR test *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*. Регистрацию результатов осуществляли визуально и с помощью фотографирования. Исследования также проводились с использованием набора реагентов для выявления 16S рРНК *Borrelia*

burgdorferi sensu lato в биологическом материале в ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией АмплиСенс *Borrelia burgdorferi* sl-FL ПЦР-комплект вариант FRT.

В точке стационарного наблюдения, расположенной в Кумженской роще – месте активного рекреационного природопользования, были собраны на флаг *Dermacentor reticulatus* и *Dermacentor marginatus*. Исследованы 40 экз. (четыре пробы) клещей, в одной из которых обнаружена ДНК *Borrelia afzelii*; 16 экз. (шесть проб) от мелких млекопитающих (*Apodemus uralensis*, *Mus musculus*, *Microtus arvalis*), в двух из которых также обнаружена ДНК *Borrelia afzelii*. Данные находки не являются единичными. Выявление ДНК возбудителя из объектов полевого материала, собранного с этой территории, происходит на протяжении ряда лет.

Левый берег Дона – самый южный участок Ростова-на-Дону, отделенный от остальной части города рекой, растянувшийся вдоль мегаполиса на 20–30 километров, признан рекреационным комплексом, является местом строения спортивных объектов и участком промышленного природопользования.

В левобережной зоне видовое разнообразие клещей представлено шире, чем в Кумженской роще. В сборах были обнаружены *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus rossicus*, *Ixodes ricinus*, с явным преобладанием *Dermacentor reticulatus*. Исследовано 337 экз. (34 пробы) иксодид, в пяти из которых выявлена ДНК *Borrelia burgdorferi* и 37 экз. (11 проб) от мелких млекопитающих (*Apodemus uralensis*, *Mus musculus*, *Microtus arvalis*) – в одной пробе обнаружена ДНК *Borrelia burgdorferi*.

Аэропорт «Ростов-на-Дону» расположен в девяти километрах к востоку от исторического и делового центра города. Аэродром плотно окружен городской застройкой со всех сторон. Его территория ограничена жилыми микрорайонами Ростова-на-Дону: поселок Пилотов, Фрунзе, Александровка, Кирпичный; с северо-востока находятся индивидуальные жилые дома города Аксай.

В окрестностях этих территорий было собрано 189 экз. клещей, в основном при осмотре прокормителей (бездомных собак и кошек, а также птиц). В сборах доминировал вид *Rhipicephalus rossicus* 119 экз., в остаточном количестве были представлены виды *Dermacentor marginatus*,

Dermacentor reticulatus, *Hyalomma marginatum*. Помимо клещей были исследованы пробы от зайцев-русаков (*Lepus europaeus*) и четырех видов птиц. В результате исследования этих объектов была выявлена ДНК *Borrelia afzelii* в восьми пробах, а в 19 обнаружена ДНК *Borrelia burgdorferi*. В двух пробах полевого материала, при использовании указанных тест-систем, обнаруженная нуклеиновая кислота была определена только до рода *Borrelia* sp.

Щепкинский лес находится на северо-востоке Ростова-на-Дону – это самое крупное лесное насаждение вблизи городской черты, является излюбленным местом для отдыхающих горожан.

В точке сбора на территории лесного хозяйства были добыты иксодовые клещи *Dermacentor marginatus* и *Ixodes ricinus*; и млекопитающие *Apodemus uralensis*, *Mus musculus*. В исследованном материале также были находки маркера *Borrelia burgdorferi* в трех пробах (*Dermacentor marginatus*, *Ixodes ricinus*, *Apodemus uralensis*).

В пойме реки Темерник находится несколько административных районов города (микрорайоны Темерник и Каменка, Северный жилой массив), а также Ботанический и зоологический сады.

Из стационаров, расположенных в пойме реки Дон, в сборах полевого материала преобладали клещи *Dermacentor marginatus*, единично был представлен вид *Ixodes ricinus*, из мелких млекопитающих добыты *Apodemus uralensis*, *Mus musculus*, *Microtus arvalis*, *Rattus norvegicus*. ДНК *Borrelia afzelii* была выявлена в четырех пробах (по две *Dermacentor marginatus* и *Mus musculus*); *Borrelia burgdorferi* – в трех (в двух *Dermacentor marginatus* и одной – *Mus musculus*). И в одной пробе наблюдалась спонтанная инфицированность *Borrelia afzelii* и *Borrelia burgdorferi*.

Таким образом, на всех стационарах многолетнего наблюдения прослеживается туры циркуляция возбудителей ИКБ в цепи носитель–переносчик–носитель.

Все рассматриваемые территории являются урбанизированными, с высокой степенью антропогенной нагрузки. В то же время происходит непрерывное функционирование природного очага ИКБ.

Существование паразитов вкупе с хозяевами, сложившееся в ходе эволюционного процесса имеет крепкие связи и, по всей видимости, гибко подстраивается под меняющиеся условия окружающей среды.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ МРНК ГЕНОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ АПОПТОЗА И ВЫЖИВАНИЯ С УЧАСТИЕМ РЕЦЕПТОРА СМЕРТИ FAS У ДЕТЕЙ С ВЭБ- И ЦМВ-ОПОСРЕДОВАННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ

¹ ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

² ФГБОУ ВО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород

Острый инфекционный мононуклеоз (ОИМ), инициированный вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и реже цитомегаловирусом (ЦМВ), характеризуется увеличением количества инфицированных лейкоцитов. Уничтожение инфицированных клеток происходит при активации Fas-опосредованного апоптоза, кроме этого с участием Fas могут активироваться JNK- и NFκB-опосредованные сигнальные пути выживания и пролиферации клеток. Все элементы данных сигнальных путей характеризуются широким полиморфизмом на уровне мРНК. Специфические особенности экспрессии мРНК генов апоптоза и выживания в лейкоцитах при ВЭБ- и ЦМВ-опосредованном ИМ остаются во многом неизученными.

Целью работы явился анализ экспрессии мРНК элементов Fas-опосредованного сигналинга апоптоза и выживания в крови детей с ВЭБ- и ЦМВ-опосредованным ИМ до и после лечения.

Объектом исследования явились образцы мРНК, выделенные из крови несовершеннолетних детей с диагнозом ОИМ, инициированный ВЭБ или ЦМВ, до и после лечения, а также условно здоровых доноров сопоставимого пола и возраста. Полуколичественный анализ экспрессии сплайсированных вариантов мРНК элементов Fas-ассоциированного сигналинга проводился с помощью сконструированных нами ДНК-микрочипов. Пробоподготовка биоматериала осуществлялась в соответствии с ноу-хау «Модифицированный способ получения дц-кДНК из биологического материала для анализа экспрессии сплайсированных вариантов мРНК с помощью биологических микрочипов технологии Custom Array, США», исключительные права на которое принадлежат ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной. Детекция сигналов гибридизации аРНК проводилась амперометрическим методом с помощью набора Electra Sense Detection Kit (США). Для полученных данных проводилась коррекция фона с использованием алгоритма RMA и квантильная нормализация результатов с помощью пакета программ Mathworks Matlab R2014b.

Fas-зависимый апоптотический сигналинг. Все изменения уровней мРНК при ОИМ и после лечения выявлялись по сравнению с условно здоровыми донорами.

При инфицировании ВЭБ не менялись суммарные уровни экспрессии мРНК основных элементов, образующих комплекс DISC внешнего пути апоптоза (Fas, FasL, FADD, каспаза-8) как до, так и после терапии. При ЦМВ-инфекции суммарная экспрессия мРНК Fas, FasL, и FADD также не менялась. При этом значительно (на 91 %) снижался уровень некодирующей мРНК каспазы-8 (CASP-8_NR_111983), выполняющей ингибирующие функции. После лечения отмечалось значительное (на 41 %) повышение уровня мРНК основной изоформы медиатора FADD (NM_003824), при этом уровень некодирующей мРНК каспазы-8 (NR_111983) оставался значительно (на 76 %) сниженным.

При ВЭБ-инфекции не менялась суммарная экспрессия мРНК эффекторных каспаз -3, -6, но резко возрастал (на 230 %!) уровень мРНК эффекторной каспазы-7 (Casp-7 alpha_NM_033339), который нормализовался после лечения. При инфицировании ЦМВ суммарные уровни мРНК каспаз -3, -6, -7 не менялись до и после лечения.

При ВЭБ- и ЦМВ-опосредованном ИМ не менялась экспрессия мРНК ключевых элементов апоптосомы внутреннего пути апоптоза (каспазы-9, CytC и APAF-1), причем как до, так и после терапии. Детальный анализ показал, что при ВЭБ-инфекции не менялись уровни мРНК проапоптотических (Bak, Bad, Bid, Bax) и антиапоптотических (Bcl2, Bcl2L1, MCL) факторов внутреннего пути апоптоза. Однако значительно снижался (на 33 %) уровень мРНК проапоптотического фактора BCL2L11 (Bim ABC_NM_001204113), причем по данным литературы данная изоформа не активирует апоптоз. После лечения значения данного показателя нормализовались. При инфицировании ЦМВ суммарные уровни мРНК Bad, Bid, Bax, а также Bcl2L1 и MCL не менялись. При этом незначительно возрастал суммарный уровень мРНК проапоптотического фактора Bak1 (на 14 %), а уровень основной изоформы мРНК антиапоптотического фактора Bcl-xL (NM_138578) резко снижался (на 97 %). После лечения суммарный уровень мРНК Bak1 нормализовался, уровни мРНК Bcl-xL (NM_138578) оставались пониженными на 63 %. Также повышалась экспрессия мРНК проапоптотического фактора AIF-exB (AIFM1 NM_145812) – на 17 %.

Fas-зависимый сигналинг выживания. При ВЭБ-инфекции до и после лечения не менялась суммарная экспрессия мРНК TRAF1, являющегося ключевым медиатором cJUN и NFκB-сигнальных путей выживания. Только при ЦМВ-инфекции снижался на 28,5 % уровень мРНК укороченной изоформы TRAF1(b) (NM_001190947), предположительно выполняющей ингибирующие функции, который достигал значений нормы после лечения. При инфицировании ВЭБ и ЦМВ, а также после лечения, не менялась суммарная экспрессия мРНК TRADD, TRAF-2 и RIP-1 (медиаторы активации cJUN и NFκB-опосредованных сигнальных путей выживания).

При ВЭБ-инфекционном мононуклеозе отмечалось значительное повышение (на 30 %) уровня элемента комплекса активации транскрипционного фактора NFκB – RNF31 (NM_017999), который после лечения возвращался в норму. При ЦМВ уровень мРНК RNF31 (NM_017999) был также значительно повышен (на 54 %), и оставался повышенным (на 17 %) после терапии. Только при инфицировании ЦМВ, но не ВЭБ, резко повышались уровни мРНК IKKB/IKKB (NR_033818) (на 205 %), еще более возраставшие после лечения (рост на 229 %). При ВЭБ-инфекции на 43 % снижался уровень мРНК ингибитора транскрипционного фактора NFκB – NFκBID (NM_139239), достигавший значений нормы после лечения.

При инфицировании ЦМВ уровень данной мРНК NFκBID не менялся.

Только при ЦМВ-инфекции резко снижался уровень мРНК MAP4K4 (NM_145686) (на 77 %), а также уровень мРНК эффекторной киназы MAPK8/JNK1 beta2 (NM_001278547) (на 214 %), которые после терапии возвращались в норму. При инфицировании ВЭБ на 50 % повышалась экспрессия мРНК укороченной ингибиторной изоформы MAP4K4/NIK/HGK (NM_001242560), нормализующаяся после терапии. При ЦМВ-инфекции уровни данной мРНК повышались на 55 %, оставаясь примерно на том же уровне после лечения.

При ОИМ до и после лечения в крови детей выявлялись изменения суммарных уровней и отдельных сплайсированных вариантов мРНК генов Fas-зависимых сигнальных путей апоптоза и выживания. По сравнению с донорами уровни мРНК генов инициаторных и эффекторных элементов Fas-опосредованного апоптоза оставались преимущественно неизменными как до, так и после лечения. Кроме этого, отмечались разнонаправленные изменения уровней мРНК элементов NFκB и cJUN-опосредованного сигналинга, отличное для ВЭБ и ЦМВ, которые после лечения преимущественно нормализовались. Полученные данные расширяют представления о молекулярных механизмах иммунопатогенеза ВЭБ- и ЦМВ-опосредованного ОИМ у детей.

САХАРНОВ Н.А.¹, КНЯЗЕВ Д.И.¹, СОЛНЦЕВ Л.А.¹, КУЛОВА Е.А.², УТКИН О.В.^{1,2}

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МРНК ГЕНОВ FAS-ЗАВИСИМОГО СИГНАЛИНГА, НАПРАВЛЯЮЩИХ КЛЕТКУ ПО ПУТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ВЫЖИВАНИЯ, У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ

¹ ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

² ФГБОУ ВО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород

Этиологическими факторами инфекционного мононуклеоза (ИМ) являются лимфотропные герпесвирусы (ВЭБ, реже ЦМВ и ВГЧ-6). Острый инфекционный мононуклеоз (ОИМ) чаще всего протекает у детей. ОИМ характеризуется увеличением количества инфицированных лейкоцитов. Элиминация инфицированных клеток происходит с помощью Fas-опосредованного апоптоза, кроме этого с участием Fas могут активироваться JNK и NFκB – опосредованные сигнальные пути активации генов выживания и пролиферации клеток. Итоговые события активации Fas определяются соотношением про- и антиапоптотических факторов,

которые характеризуются широким полиморфизмом на уровне мРНК.

Целью работы явился анализ экспрессии мРНК элементов Fas-опосредованного сигналинга выживания и пролиферации в крови детей с ОИМ до и после лечения.

Объектом исследования стали образцы мРНК, выделенные из крови детей 6–17 лет с диагнозом ОИМ до и после лечения, а также условно здоровых доноров сопоставимого пола и возраста. Полуколичественный анализ экспрессии сплайсированных вариантов мРНК элементов Fas-ассоциированного сигналинга проводился

с помощью сконструированных нами ДНК-микрочипов.

С помощью баз данных Gene Bank (<http://ncbi.nih.gov>) и KEGG PATHWAY (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) нами были выбраны гены, участвующие в реализации и регуляции сигнальных путей апоптоза и выживания с участием рецепторов смерти, в том числе Fas. После этого формировалась библиотека сплайсированных изоформ мРНК данных генов и подбирались индивидуальные и групповые олигонуклеотидные ДНК-зонды, специфичные к отдельным изоформам мРНК или одновременно нескольким изоформам мРНК. Синтез зондов на поверхность ДНК-микрочипа осуществляли с помощью модифицированного амидофосфитного метода на платформе Custom Array (США). С помощью разработанного ДНК-микрочипа в рамках настоящей работы проводился полуколичественный анализ экспрессии мРНК генов, участвующих в реализации и регуляции только Fas-опосредованных сигнальных путей апоптоза и выживания.

Выделение тотальной мРНК из крови проводилось с помощью набора «Магносорб» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Далее проводилась обратная транскрипция мРНК с помощью набора реактивов для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) («Евроген», Россия). Полученная дц-кДНК использовалась в качестве матрицы для транскрипции с помощью T7 РНК-полимеразы («Thermo Scientific», ЕС). В состав полученной РНК вводился биотинилированный аналог нуклеотида Bio-12-УТР («ДНК-синтез», Россия). Далее проводилась гибридизация меченой РНК на поверхность микрочипов. Детекция сигналов гибридизации аРНК проводилась амперометрическим методом с помощью набора Electra Sense Detection Kit (США). Для полученных данных проводилась коррекция фона с использованием алгоритма RMA и квантильная нормализация результатов с помощью пакета программ Mathworks Matlab R2014b.

Все изменения уровней мРНК при ОИМ и после лечения выявлялись по сравнению с условно здоровыми донорами. При ОИМ, а также после лечения не было выявлено изменений суммарных уровней мРНК рецептора смерти Fas и его лиганда (FasL). При ОИМ также оставались неизменными суммарные уровни мРНК TRADD, TRAF-2, RIP-1 – медиаторов активации cJUN и NFκB – опосредованных сигнальных путей выживания. При ОИМ были значительно (на 42 %) повышены уровни мРНК RNF31 (NM_017999) – элемента активации транскрипционного фактора NFκB. После лечения уровни мРНК RNF31 (NM_017999) возвращались в норму. При ОИМ были снижены (на 19 %) уровни мРНК ингибитора NFκB – NFKBID (NM_139239), но при этом повышались (на 21 %) уровни мРНК некодирующей изоформы ингибитора NFκB – NFKBIB (NR_040515), после лечения уровни мРНК возвращались в норму. Необходимо отметить, что суммарные уровни мРНК транскрипционных факторов NFκB1 и NFκB2, оставались неизменными до и после лечения. При ОИМ были значительно (на 47 %) повышены уровни укороченной изоформы мРНК MAP4K4/NIK/HGK (NM_001242560) – инициаторной киназы JNK-опосредованных сигнальных путей, предположительно выполняющей ингибиторные функции, после лечения они возвращались в норму. При ОИМ суммарные уровни мРНК эффекторных киназ JNK1/MAPK8 и JNK2/MAPK9, активирующих транскрипционные факторы генов пролиферации и выживания, оставались неизменными до и после лечения. При этом суммарные уровни JNK-зависимых транскрипционных факторов cMyc и cJun также не изменялись.

Таким образом, при ОИМ в крови у детей выявлялись изменения суммарных уровней и отдельных сплайсированных вариантов мРНК инициаторных факторов Fas-опосредованных сигнальных путей пролиферации и выживания, которые после лечения нормализовались. При этом уровни мРНК эффекторных элементов Fas-сигналинга оставались неизменными.

САХАРОВ К.А., АНДРЕЕВ С.В., ШЕСТОПАЛОВА Т.Н., МЕЛЬНИКОВА Г.Н., СКОПИН А.Ю.

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ РУК

ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора,
Москва

За рабочую смену персонал в медицинских организациях вынужден обрабатывать руки дезинфектантом (кожным антисептиком, жидким мылом с бактерицидным эффектом или без него) до нескольких десятков раз. При многолетней практике это оказывает негативное воздействие

на кожные покровы, к тому же занимает много рабочего времени (одна гигиеническая обработка рук в зависимости от применяемого средства длится порядка от 30 сек до 1,5–2 минут, что при масштабировании на месяцы и годы возрастает до многих часов).

Создание устройства, позволяющего проводить гигиеническую обработку рук медицинским персоналом за существенно более короткий срок (менее 30 секунд) позволит уменьшить отрицательное воздействие антисептика на руки, повысить его переносимость после обработки рук, обеспечив безопасность и приемлемость применения, позволяя улучшить условия обработки рук и повысить производительность труда медицинских работников.

Наличие и большое разнообразие антисептиков, в том числе нового поколения, выпускаемых в виде готовых к применению растворов или гелей, а также разных типов мыл стимулирует поиск и активную разработку рациональных способов нанесения перечисленных средств на руки.

В рамках данной работы было создано устройство для обеззараживания рук, обеспечивающее полный цикл обработки за 20–25 секунд, существенно снижающее когнитивную нагрузку на персонал.

Предлагаемое техническое решение позволяет существенно повысить качество обеззараживания рук за счет возможности эффективной обработки дезинфектантом всей поверхности рук при минимальных расходах дезинфектанта и сушильного агента.

Данный результат достигается тем, что в устройстве для обеззараживания рук, содержащем снабженные отверстиями для ввода рук корпус с дезинфекционной камерой, в которой размещены средства для распыления дезинфектанта и средства подачи потока сушильного агента для сушки рук, дезинфекционная камера выполнена в виде двух барабанов, выполненных с возможностью возвратно-вращательного движения, средства распыления дезинфектанта в каждом барабане выполнены в виде форсунки, размещенной на каретке, установленной на стенке барабана с возможностью возвратно-поступательного перемещения вдоль его оси, а средство подачи потока сушильного агента для сушки рук каждого барабана выполнено в виде кольцевого коллектора, размещенного по периферии на входе в барабан, снабженного форсунками, направляющими поток сушильного агента внутрь барабана.

Выполнение дезинфекционной камеры в виде двух барабанов, выполненных с возможностью возвратно-вращательного движения и средства распыления дезинфектанта в каждом барабане в виде форсунки, размещенной на каретке, установленной на стенке барабана с возможностью возвратно-поступательного перемещения вдоль его оси, обеспечивает повышение качества обеззараживания рук за счет возможности эффективной обработки дезинфектантом всей поверхности руки при помощи форсунки, перемещающейся

вокруг и вдоль руки. При этом снижается расход дезинфектанта, так как в отличие от других подобных устройств, где имеется множество размещенных по всему объему камеры форсунок, используется только одна форсунка, направляющая поток дезинфектанта непосредственно на поверхность руки. Расход сушильного агента уменьшается за счет того, что вместо выполнения дезинфекционной камеры с одним общим корпусом для размещения в нем рук пользователя (как в прототипе), в предлагаемом техническом решении дезинфекционная камера выполнена в виде двух барабанов, в которых можно направить поток сушильного агента вдоль рук пользователя и интенсифицировать таким образом массообменные процессы.

Выполнение средств подачи потока сушильного агента для сушки рук каждого барабана в виде кольцевого коллектора, размещенного по периферии на входе в барабан, снабженного форсунками, направляющими газовый поток внутрь барабана, позволяет уменьшить расход сушильного агента за счет интенсификации массообменных процессов в барабанах путем интенсивного струйного воздействия сушильного агента на всю поверхность рук пользователя.

Выполнение емкости с дезинфектантом в виде аэрозольного баллона позволило отказаться от использования в устройстве для обеззараживания рук насоса, что упрощает устройство в целом, облегчает его эксплуатацию и уменьшает себестоимость.

Эффективность данного устройства отрабатывалась на добровольцах, на естественной микрофлоре, а также на контаминированных *Escherichia coli* руках. Из полученных результатов следует, что для достижения целевой эффективности 99,9 % необходимо введение выдержки между этапами обработки и сушки рук.

В качестве кожного антисептика использовался аэрозольный баллон, содержащий 55 % этилового спирта, 2 % 2-феноксиэтанола, 40 % углеродородного пропеллента, а также функциональные добавки, снижающие негативное воздействие рецептуры на кожные покровы.

Показано, что эффективность обработки рук с помощью разработанного устройства аналогична той, которая достигается при используемой в настоящее время схеме обработки.

В настоящее время проводятся дополнительные испытания устройства, целью которых является подготовка для практических испытаний.

Подобное устройство может использоваться не только в медицинских организациях, но и на предприятиях пищевой и перерабатывающей промышленности, на пищеблоках, на предприятиях коммунального обслуживания.

НОВЫЕ ОПАСНЫЕ ПАРАМИКСОВИРУСЫ

ФГБОУ ВО Российский университет дружбы народов,
Москва

В 1994 г. произошла вспышка острого респираторного заболевания с высоким уровнем смертности у породистых лошадей в частной конюшне района Хендра города Брисбен на востоке Австралии. В результате у двух сотрудников, которые ухаживали за животными, развилась тяжелая гриппоподобная болезнь и через несколько дней один из них погиб. Новый вирус был изолирован от больной лошади и больного человека, и клиническая картина была экспериментально воспроизведена на лошадях в условиях лаборатории. С того времени и по сегодняшний день периодически продолжают случаться случаи этой страшной болезни и у лошадей, и у людей. Чаще всего инфицируются сотрудники сельского хозяйства, ветеринары, которые работают в тесном контакте с животными или проводят вскрытие уже павших лошадей. Генно-молекулярный анализ вирусов, выделенных от лошадей, людей и летучих мышей свидетельствовал о наличии тесной взаимосвязи между собой и с вирусами рода Морбилливирус. Из-за этого первоначальное обозначение этого вируса упоминается как лошадиный (эквин) морбилливирус. Чтобы избежать путаницы с возможными будущими изолятами и не делать привязку к лошадям, обозначение вируса было изменено на Хендра, чтобы отразить расположение первой изоляции. В последствии, новый вирус вместе с вирусом Нипах сформировал род *Henipavirus* семейства *Paramyxoviridae* порядка *Mononegavirales*. Вирусы нового рода сферической формы, их диаметр 120–150 нм. Геном представлен одноцепочечной несегментированной РНК, имеются капсид и суперкапсид. Встроенные гликопротеины прикрепления (G) и расщепления (F), а также фосфопротеиназа (P) обеспечивают проникновение РНК вируса в чувствительную клетку-мишень.

Вирус Хендра циркулирует как субклиническая инфекция, то есть без видимых клинических признаков, у определенных видов плоядных и насекомоядных летучих мышей. Передача вируса лошадям и людям происходит через загрязнение окружающей среды, а особенно фруктов, любыми выделениями крыланов (слюна, фекалии, моча, плацентарная жидкость). Клинические признаки у зараженных лошадей включают анорексию, депрессию, лихорадку и увеличение частоты дыхания и сердцебиения, сопровождаются респираторными или неврологическими симптомами. Фаза клинических признаков, как правило, имеет острое течение и животные быстро умирают. Инкубационный

период у экспериментально зараженных лошадей был от 6 до 10 дней. Кошки, хорьки, хомяки, морские свинки очень восприимчивы к экспериментальному заражению, и характер клинической картины идентичен лошадиному. Кролики и мыши оказались не восприимчивы к экспериментальному заражению.

В 1998–99 гг. была зарегистрирована вспышка острого энцефалита с высокой смертностью среди рабочих свиноводческих хозяйств Малайзии. Одновременно заболевание регистрировалось и у свиней с респираторной симптоматикой, носовым кровотечением, одышкой и кашлем у поросят. Более старые животные проявляли неврологические признаки, такие как атаксия, парез, судороги и мышечный тремор. Уровень смертности у людей был примерно 50 %, у свиней – более низкий. Развитие энцефалита у людей и животных привело к предположению, что в качестве возбудителя выступает вирус японского энцефалита. Однако последующая вакцинация людей против данной инфекции оказалась провальной. В последующем от больных людей и павших свиней был изолирован морбилливирус. По нескольким антигенам он был связан с вирусом Хендра, но последующий генетический анализ последовательностей выявил новый вид в роду *Henipavirus*, и в настоящее время он обозначается как вирус Нипах. Название это произошло от наименования села в Малайзии, где вирус нанес огромный урон животноводству и среди аборигенов значился, как «синдромом лающей свиньи» из-за характерного кашля. По результатам генного секвенирования вируса Нипах от свиней, людей и крыланов подтверждена их высокая идентичность, гомология составляет 99 %. Пути заражения: алиментарный (от обсемененных слюной фруктов, пальмового сока и др.), воздушно-капельный, контактный (например, при разделке туш павших животных). Вирус может быть изолирован с носоглоточных смывов инфицированных свиней, начиная уже с четвертого дня после заражения. Помимо свиней экспериментально было доказано, что кошки и морские свинки также могут быть инфицированы вирусом Нипах и могут представлять угрозу для человека как новый вектор передачи.

У лошадей, которые выжили после Хендра инфекции, а у свиней после Нипах развиваются нейтрализующие антитела в очень высоком титре. В настоящее время нет вакцин или эффективных противовирусных препаратов, лицензированных

для лечения человека. Во время первой вспышки Нипах в Малайзии был в терапевтических целях использован рибавирин, но видимых результатов он не проявил. Также рибавирин был применен в Австралии для лечения пациентов, инфицированных Хендра, и опять же отсутствовал хороший терапевтический эффект. В 2009 г. для лечения пациента с Хендра инфекцией решили попробовать схему хлорохина с рибавирином, однако клинического эффекта не наблюдалось, человек погиб. В 2015 г. в Австралии компания Пфайзер выпустила вакцину для профилактики Хендра инфекции у лошадей. Антигенным детерминантом в ней служит гликопротеин G. Жеребят вакцинируют в возрасте 4 и 6 месяцев с последующей ревакцинацией каждый год. Однако, данный препарат пока прошел

лицензирование только на территории Австралии. За рубежом не продается. В обязательный календарь прививок не входит. Приобретается частными коневодами за их счет, то есть финансирование государственными органами не происходит даже во время энзоотий. В настоящее время в разных странах мира, преимущественно в Австралии, Англии и США, ведутся разработки вакцины для людей против Нипах и Хендра. Неспецифическая профилактика направлена на снижение риска заболеваемости путем повышения информированности населения эндемичного региона о необходимости избегать контактов с рукокрылыми, не употреблять необработанный пальмовый сок и немытые фрукты, возможно загрязненные выделениями крыланов.

САШИНА Т.А., МИГУНОВА Т.А., МОРОЗОВА О.В., НОВИКОВА Н.А.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РОТАВИРУСОВ ГЕНОТИПА G9P[8] ПО ГЕНУ ЭНТЕРОТОКСИНА NSP4

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Ротавирусы группы А являются основным инфекционным агентом, вызывающим острый гастроэнтерит у детей младше пяти лет. Ведущую роль в патогенезе ротавирусной инфекции играет гликопротеин NSP4, обладающий свойствами энтеротоксина. В 2016 г. в Нижнем Новгороде произошла смена доминирующего генотипа ротавирусов, преобладающим стал G9P[8]. Ротавирусы данного генотипа были охарактеризованы на основе нуклеотидной последовательности гена, кодирующего белок наружного капсида VP7 – основного индуктора нейтрализующих вирус антител. Филогенетический анализ показал, что активизация циркуляции ротавирусов генотипа G9P[8] в 2014 г. связана с появлением в популяции нового варианта, который был родственен штаммам, идентифицированным в 2010 г. в Турции. Представляет научный интерес изучение молекулярных особенностей гена энтеротоксина нового варианта ротавируса. В связи с этим, целью работы стал анализ первичной структуры гена и белка NSP4 нижегородских ротавирусов генотипа G9P[8].

Фрагменты кДНК длиной 750 п.н., соответствующие OPC гена энтеротоксина ротавирусов, амплифицировали с помощью праймеров GEN_NSP4F и GEN_NSP4R (Matthijnsens J. et al., 2008), очищали и секвенировали с применением набора реактивов DTCS Quick Start Kit и системы генетиче-

ского анализа Beckman Coulter CEQ 8000 (Beckman Coulter, США). Генотип NSP4 определяли с помощью онлайн-сервиса RotaC 2.0. Полученные последовательности размещены в GenBank под номерами: KC689358–KC689361, KY271794, KY271795. Нуклеотидные и выведенные аминокислотные последовательности выравнивали с использованием программы MEGA 6.0. Выравнивание нуклеотидных последовательностей анализировали с применением Байесовского подхода в программах BEAUti 1.8.2 и BEAST 1.8.2. Филогенетическое дерево строили в программе TreeAnnotator 1.8.2 и визуализировали в программе FigTree 1.4.2.

Были получены нуклеотидные последовательности полной OPC гена NSP4 12-ти изолятов ротавируса генотипа G9P[8], из которых 4 были выявлены в 2011–2012 гг., 8 – в период 2014–2016 гг. На основе полученных последовательностей был определен генотип NSP4 исследуемых изолятов – E1. Филогенетический анализ выявил, что нижегородские ротавирусы относились к двум линиям внутри этого генотипа (E1-I и E1-III). На дереве в пределах линии E1-I нуклеотидные последовательности ранее циркулировавших и новых нижегородских ротавирусов образовали два разных временных кластера, обозначенные нами E1-I/2011-12 и E1-I/2016 в соответствии с периодом их выявления. В состав третьего кластера, соответствовавшего сублинии E1-III, вошли

только штаммы, обнаруженные в 2014–2016 гг. (обозначен E1-III/2014-16). Сходство нуклеотидных последовательностей внутри этих кластеров было 99,1–100,0 %, между разными кластерами составило 92,3–98,2 %.

Аминокислотная последовательность белка NSP4 нижегородских ротавирусов была вариативна в 12-ти позициях. Ротавирусы кластера E1-I/2016 отличались от ранних штаммов кластера E1-I/2011-12 четырьмя аминокислотами, представители кластера E1-III/2014-16 – девятью аминокислотами. Между кластерами E1-I/2016 и E1-III/2014-16, включающими новые штаммы, обнаружено 11 различий.

Таким образом, ротавирусы генотипа G9P[8], циркулировавшие с 2014 г. были филогенетически отличны от выявленного ранее, в 2011–2012 гг., варианта, не только по гену белка наружного капсида VP7, но и по гену энтеротоксина NSP4. Однако, среди ротавирусов, идентифицированных в 2016 г., наблюдался высокий уровень вариативности нуклеотидной последовательности гена NSP4 (до 7,7 %). Разные аллели гена NSP4 кодируют белки, имеющие множественные замены аминокислот, которые локализованы преимущественно в цитоплазматическом домене NSP4 в регионах, важных для взаимодействия с белками VP6 и VP4 в процессе созревания вирусных частиц.

СЕВОСТЬЯНОВА А.В.¹, САПЕГА Е.Ю.², БУТАКОВА Л.В.², ГАВРИЛОВА Т.А.³,
ХАКИМОВА М.И.⁴, КАЗАНОВА В.Б.⁴, ВЕРХОЗИНА М.М.⁴

ЗАВОЗ ЭПИДЕМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ЭНТЕРОВИРУСОВ В ИРКУТСКУЮ ОБЛАСТЬ ИЗ ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАН

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

² ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»,
Хабаровск

³ Управление Роспотребнадзора по Иркутской области,
Иркутск

⁴ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области»,
Иркутск

В последние годы активизировалась туристическая активность населения, большому кругу лиц стал доступен отдых в странах Юго-Восточной Азии, вместе с тем растет количество завозных случаев энтеровирусных инфекций (ЭВИ) с эндемичных территорий. Согласно данным официальной статистики в России за период с января по июль 2017 г. отмечается превышение заболеваемости ЭВИ в сравнении с аналогичным периодом прошлого года на 25,7 %, энтеровирусным менингитом – 28,4 %, также наблюдается превышение среднемноголетнего уровня заболеваемости в 2,1 и в 1,7 раза соответственно. В 2017 г. наладились экономические отношения с Турцией, в результате значительный поток туристов хлынул на популярные курорты Турции, для более 800 граждан России отдых на морском побережье обернулся инфицированием энтеровирусом (ЭВ) Коксаки, 77 % пострадавших из которых – дети. По данным за 2016 г. в Иркутской области основной туристический пассажиропоток проходит в Китай – 80745 человек, Тайланд – 64944 и Вьетнам – 25492.

Целью работы являлась эпидемиологическая оценка риска распространения эпидемически

значимых вариантов ЭВ на территорию Иркутской области в условиях роста миграционной активности населения.

Эпидемиологический анализ проведен на основе форм государственной статистической отчетности (форма № 2), государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения» и информационных писем Роспотребнадзора по Иркутской области с использованием статистического анализа, реализованных в электронных таблицах Excel 7.0. Исследовано 107 проб клинического материала (ротоглоточные смывы, ректальные мазки, фекалии) от больных ЭВИ и контактных, 26 из которых типированы. Для выделения РНК ЭВ и реакции обратной транскрипции использовали наборы «Рибо-преп» и «Reverta-L» (ООО Интерлабсервис, Москва). Полученную кДНК амплифицировали в 2-раундовой ПЦР с набором ПЦР-РВ (ЗАО «Синтол», Москва) и вырожденными праймерами для фрагмента гена VP1 (Mirand A. et al., 2008) длиной 1100 п.н. и фрагмента VP 2 (Nasri D. et al. 2007) длиной 368 п.н. Анализ результатов ПЦР проводили методом электрофореза в 1%-ном агарозном геле. Реакцию секвенирования проводили с набором

реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 (Applied Biosystems, США) на генетическом анализаторе ABI Genetic Analyzer 3500 xL (Applied Biosystems, Япония). Для анализа нуклеотидных последовательностей использовали программу BioEditv.7.0.5.3.

В 2016 г. в Иркутской области после 12-летнего перерыва произошел подъем заболеваемости ЭВИ, зарегистрировано 318 случаев с показателем 13,17 на 100 тыс. населения, что в 2,3 раза превышает уровень 2015 г. ($5,97 \text{ ‰} /_{\text{oooo}}$), в том числе у детей до 14 лет – 283 случая с показателем $60,36 \text{ ‰} /_{\text{oooo}}$. При групповых случаях заболеваний ЭВИ в организованных коллективах в эпидемический процесс вовлекалось детское и взрослое население гг. Иркутска, Ангарска, Иркутского района. В 2017 г. эпидемиологическая ситуация по ЭВИ остается напряженной, период сезонного подъема заболеваемости ЭВИ характеризовался началом в первой декаде июня. За семь месяцев 2017 г. зарегистрировано 110 случаев ЭВИ (показатель $4,56 \text{ ‰} /_{\text{oooo}}$), что в 1,6 раза превышает аналогичный показатель 2016 г. ($2,78 \text{ ‰} /_{\text{oooo}}$), при этом доля серозного менингита сократилась в 2,5 раза. В 2016 г. при расшифровке групповых заболеваний обнаружен ЕСНО 30 ЭВ (три изолята) в сочетании с впервые выявленными в Иркутской области вирусами Коксаки А-6 (четыре РНК-изолята) и Коксаки А-10 (два изолята). Ранее ЭВ ЕСНО 30 определялся как этиологический агент массового эпидемического осложнения 2003 г. в г. Иркутске с числом пораженных – 774 человека (Чубук и др., 2004). Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей показал, что изоляты ЕСНО 30, которые широко распространены в мире, имеют генетическое сходство с нуклеотидными последовательностями изолятов 2013 г. из России (95–98%), Коксаки А-6 – с последовательностями 2014 г. из Тайланда и Китая (96%), Коксаки А-10 – с изолятами из Китая 2015 г. (98%). Среди впервые обнаруженных в Иркутской области ЭВ 2016 г. оказались: Коксаки А-16 (2 пробы) и Коксаки А-9 (1 проба), генетическое сходство которых составило 97% с последовательностями 2014 г. из Вьетнама и 2009 г. из Китая.

В 2017 г. наиболее неблагоприятная эпидемиологическая ситуация складывается в г. Иркутске и

Иркутском районе. При групповой заболеваемости в ГОБУ «Иркутский кадетский корпус» впервые выявлены три РНК-изолята ЕСНО 18 (генетическое сходство с изолятами 2016 г. из Китая составляет 97%) в сочетании с Коксаки-В3 (сходство с последовательностью из Хабаровска 2015 г. составляет 96%), ЕСНО 7 (генетическое сходство – 99% с последовательностью 2009 г. из Кувейта) и Коксаки-В4 (99% с последовательностью 2013 г. из Санкт-Петербурга).

Необходимо отметить обнаружение в последние годы в Иркутской области энтеровирусов, имеющих важное эпидемиологическое значение и склонных к значительному эпидемическому распространению: ЭВ D-68, ЭВ С-104. РНК-изолят ЭВ D-68 выявлен в 2016 г. на базе Иркутского НИПЧИ в клиническом материале от бессимптомного носителя, обследованного по контакту в очаге групповой заболеваемости в детском учреждении г. Ангарска, при этом генетическое сходство – 96% определено с нуклеотидной последовательностью 2012 г. из Малайзии. ЭВ С-104 выявлен в 2017 г. на базе ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии при исследовании клинического материала от ребенка, прибывшего из Вьетнама. Ранее в России циркуляция последних ЭВ не регистрировалась. Также имеет место дальнейшее распространение на территории области ЭВ 71 типа, который впервые выявлен в 2011 г. в Иркутском НИПЧИ.

Таким образом, установлена генетическая вариабельность ЭВ в Иркутской области с ежегодным выявлением новых вариантов ЭВ. Государственные границы для ЭВ условны, охват лабораторной диагностикой декретированных групп населения на ЭВИ не является обязательным лабораторным минимумом, а бессимптомное носительство патогенных ЭВ – явление широко распространенное. Завоз новых ЭВ, вызывающих тяжелое течение инфекционного заболевания из эндемичных стран Юго-Восточной Азии (Китай, Вьетнам, Малайзия, Тайланд), является реальным, особенно в условиях современной мобильности населения, что требует проведения постоянного вирусологического мониторинга с применением высокотехнологичных молекулярно-генетических методов исследования в системе эпидемиологического надзора.

СЕРОВ А.А.

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ ГОСПИТАЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора,
Москва

Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в последние годы приобретает все большее значение.

Структура возбудителей ИСМП в последние годы претерпела значительные изменения и на сегодняшний день многими отечественными и зарубежными исследователями отмечается преобладание грамотрицательной микрофлоры, обладающей резистентностью к некоторым группам антибиотиков, а в ряде случаев имеющих множественную лекарственную устойчивость.

Распространению возбудителей ИСМП способствует возрастание их устойчивости к различным антибактериальным препаратам, в частности к дезинфицирующим средствам (ДС). Использование медицинскими организациями (МО) ДС, имеющих режимы применения ниже бактерицидных, а также неправильное хранение и приготовление рабочих растворов ДС приводят к селекции устойчивых к ДС штаммов микроорганизмов.

Целью исследования явилось изучение и анализ чувствительности к ДС микроорганизмов, выделенных с объектов внешней среды в отделениях реанимации и интенсивной терапии МО и имеющих устойчивость к некоторым группам антибиотиков.

Исследования проводились в соответствии с разработанной в ФБУН НИИ Дезинфектологии методикой оценки чувствительности госпитальных штаммов к ДС при проведении мониторинга в медицинских организациях. Оценка чувствительности к ДС проводилась в отношении микроорганизмов (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*), выделенных от пациентов и с объектов внутрибольничной среды, циркулирующих в МО и являющихся возбудителями ИСМП, в особенности, обуславливающих эпидемические очаги с множественными случаями заболеваний. Наряду с этим был проведен анализ образцов дезинфицирующих средств, содержащих различные химические группы действующих веществ (четвертично-аммониевые соединения (ЧАС) и композиции их содержащие, третичные амины, полигексаметилгуанидин, активный кислород, активный хлор).

На основании результатов исследований можно сделать вывод о возможности формирования устойчивости микроорганизмов, возбудителей ИСМП к ДС. К средствам на основе ЧАС и их композиций устойчивость микроорганизмов составляла 39,2 %, к остальным группам действующих веществ – 2,6–15,7 %.

СИЗОВА Ю.В.

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ КИСЛОЙ СРЕДЫ ЖЕЛУДКАФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Проблема адаптации микроорганизмов к стрессу является одной из актуальных проблем микробиологии. При этом особенностью жизнедеятельности холерного вибриона является смена экологической ниши – пребывание в инфицированном макроорганизме чередуется с существованием в природных экосистемах, в результате которой он подвергается воздействию различных стрессовых факторов. В организме человека это действие кислой среды желудочного сока, желчи, гипоксии. Показано, что выжившая после воздействия кислой среды популяция *Vibrio cholerae*, приобретает толерантность к кислоте, в том числе

за счет резкого подавления транскрипции мембранного белка *OmpT* при сохранении экспрессии *OmpU*. Отмечается, что адаптированные к кислоте клетки активнее размножаются и переходят в состояние транзитной гиперинфекционности в котором вибрионы покидают кишечный тракт человека. Однако, влияние кислой среды на ряд значимых свойств холерных вибрионов изучено недостаточно.

Целью нашей работы было изучение воздействия кислоты как фактора, моделирующего условия в организме человека *in vitro* на токсинпродукцию, способность к биопленкообразо-

ванию и антилизоцимную активность холерных вибрионов.

В работе использовали 20 штаммов *V. cholerae* O1, из которых 2 штамма классического биовара и 18 штаммов биовара Эль Тор различной эпидемической значимости.

Для имитации кислой среды желудка человека исследуемые штаммы культивировали в растворе ацидин-пепсина в кипяченой водопроводной воде в течение часа при 37 °С. Данный препарат также содержит пепсин и рекомендуется к применению людям с пониженной секреторной функцией желудка и нарушением кислотности. Его воздействие на микробные клетки более щадящее по сравнению с используемой обычно для этих целей соляной кислотой. Экспериментальное значение рН 4,0. После стрессового воздействия культуры осаждали центрифугированием при 8000 об./мин в течение 20 мин, ресуспендировали полученный осадок в физиологическом растворе и исследовали стрессированные холерные вибрионы на токсинопродукцию, способность к биопленкообразованию и уровень антилизоцимной активности.

Для определения токсинопродукции культуры холерных вибрионов инкубировали по методике М. Iwanaga на среде АК1 в шуттель-аппарате Environmental Shaker-Incubator ES -20/60 при 120 об./мин в течение 18 часов. Продукцию токсина определяли в супернатантах после предварительной обработки гентамицином в GM1-ИФА. Количество продуцируемого ХТ определяли по калибровочной кривой. В качестве положительного контроля использовали очищенный холерный токсин производства «Calbiochem». Для оценки токсинопродукции были приняты критерии: высокая – 5 и более мкг/мл, средняя – от 0,31 до 5 мкг/мл, низкая – менее 0,3 мкг/мл.

Способность к биопленкообразованию определяли в 96-луночных панелях в среде М9 по методике P.L. Watnick при комнатной температуре в течение трех суток в микроаэрофильных условиях культивирования. Результаты оценивали по оптической плотности на спектрофотометре Cary50 при длине волны 540 нм. Для оценки биопленкообразования были приняты критерии: низкая способность к биопленкообразованию – значения оптической плотности (ОП) от 0 до 0,1; средняя – 0,2–0,4; высокая степень – свыше 0,5.

Антилизоцимную активность (АЛА) холерных вибрионов определяли чашечным методом, предложенным О.В. Бухариным с соавт. Для этого готовили ряд чашек Петри с 1,5%-ным питательным агаром, содержащим коммерческий лизоцим (фирма «Seriva») в концентрациях от 0 (для контроля роста индикаторной культуры микрококка) до 20 мкг/мл с интервалом 1 мкг/мл. На поверхность агара с лизоцимом наносили полную стандартную бактериологическую петлю суточной агаровой

культуры (или взвеси) холерного вибриона и инкубировали в течение 18–24 часов при 37 °С. Выросшие культуры убивали парами хлороформа, после чего настилали 0,7%-ный мясо-пептонный агар с добавлением индикаторного штамма *M. luteus*. Посевы инкубировали 18–24 часа при 37 °С. Количественную оценку АЛА давали путем определения конечной концентрации лизоцима, которую разрушал исследуемый штамм, и выражали в мкг/мл. Для оценки уровня АЛА были приняты критерии: низкий – 1–2 мкг/мл; средний – 3–5 мкг/мл; высокий – свыше 5 мкг/мл. Все эксперименты проводили минимум в трех повторностях. Результаты статистически обработаны.

В экспериментах, моделирующих условия кислой среды желудка, было установлено, что большинство штаммов активно реагировало на стресс, повышая продукцию холерогена до среднего и высокого уровня. У высокотоксигенных штаммов *V. cholerae classical 569B* и *V. cholerae El Tor 1310* продукция токсина под влиянием стресса не изменилась. При этом максимальные уровни токсинопродукции после стрессового воздействия кислотой были зарегистрированы у штамма 19241, выделенного из морской воды в акватории г. Таганрога во время вспышки холеры в Украине в 2011 г.: показатели возросли в 666,6 раз; аналогичная динамика наблюдалась у штамма 5879, выделенного от больного также в г. Таганроге в 1972 г. (повышение токсинопродукции – в 166,6 раз). У низкопродуцирующих штаммов в кислой среде наблюдалось повышение токсинопродукции в 15,6–66,6 раза, в то время как у холерных вибрионов со средним исходным уровнем (*V. cholerae* 17427 и 18588) токсинопродукция увеличилась в 4 раза. Таким образом показано, что воздействие на вибрионы кислой среды желудка приводит к активации экспрессии генов *ctxAB*, кодирующих продукцию холерогена.

Способность к биопленкообразованию после воздействия кислой среды желудка выражалось как в снижении, так и в адаптивном повышении показателей оптической плотности. При этом холерные вибрионы с генотипом *ctx+tcp+* и *ctx-tcp-* практически не реагировали на изменение рН: у *ctx+tcp+* штаммов средние значения ОП в группе составили 0,52, в то время как у нестрессированных культур – 0,53, а у *ctx-tcp-* штаммов – 0,17 против 0,18 у исходных, в то время как штаммы вибрионов Эль Тор с генотипом *ctx-tcp+* образовывали достаточно выраженную биопленку (среднее значение ОП 0,55 против 0,218 у нестрессированных культур), что говорит о более выраженном персистентном потенциале данных штаммов и способности противостоять стрессовым воздействиям среды кишечника человека и выживать некоторое время в организме вибриононосителя. Классические холерные вибрионы практически не реагировали на стресс.

Уровень антилизотимной активность холерных вибрионов классического биовара и эпидемически значимых вибрионов как биовара Эль Тор после воздействия кислой среды оставался 2–3 мкг/мл, в то время как у нетоксигенных штаммов уровень АЛА снижался: у *ctx-tcp+* штаммов с 9,8 до 8,6 мкг/мл, у *ctx-tcp-* штаммов – с 11,7 до 9,5 мкг/мл.

Таким образом, было показано, что данный признак зависит от эпидемической значимости штаммов.

Полученные результаты по влиянию кислотного стресса на свойства холерных вибрионов в организме человека свидетельствуют, что в зависимости от эпидемической значимости штаммы *V. cholerae O1* по-разному реагируют на факторы, воздействующие на них. При этом эпидемически значимые и потенциально эпидемически значимые холерные вибрионы обладают более высоким персистентным потенциалом по сравнению с непатогенными штаммами и более устойчивы к данному стрессовому воздействию.

СИДОРОВА Е.А.¹, АДЕЛЬШИН Р.В.¹, ДМИТРИЕВА Г.М.², КОСТРЫКИНА Т.В.², ГОРЯЕВ Д.В.², СОРОКИНА О.В.³, ФИЛАТОВА С.А.³, ЧЕПИЖКО Т.Г.³, МОШКИН А.Б.⁴

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕЩЕВОГО ВИРУСНОГО ЭНЦЕФАЛИТА С ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ В КРАСНОЯРСКОМ И ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЯХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

² Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю, Красноярск

³ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае» Роспотребнадзора, Красноярск

⁴ ФКУЗ «Читинская противочумная станция» Роспотребнадзора, Чита

Напряженная эпидемическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ) в РФ поддерживается за счет Сибирского федерального округа (СФО), на который приходится около 50 % заболевших КВЭ ежегодно. Красноярский край входит в число территорий, формирующих заболеваемость КВЭ в СФО со средним показателем за последние пять лет $13,94 \text{ ‰}$. Забайкальский край отличается невысокими показателями заболеваемости – $4,3 \text{ ‰}$ за пятилетний период и не превышает таковые по СФО ($6,0 \text{ ‰}$). В Красноярском и Забайкальском краях ежегодно регистрируются от одного до шести–восьми случаев тяжелого течения КВЭ с летальным исходом.

Цель работы – охарактеризовать клинико-эпидемиологические особенности КВЭ с летальным исходом в Красноярском и Забайкальском краях и оценить молекулярно-генетические свойства возбудителя.

В работе исследовано 40 проб секционного материала (различные отделы мозга) от 12 больных КВЭ с летальным исходом из Красноярского и Забайкальского краев за период 2016–2017 гг. Информация о больных получена из карт эпидемиологического обследования очага. РНК вируса КЭ выделяли из проб мозга умерших людей с

помощью набора реагентов «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва). Получение кДНК на матрице РНК проводили комплектом «Реверта-L-100» согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИЭ, г. Москва). Нарботка специфичного фрагмента гена E длиной 211 п.н. с набором ПЦР-РВ (ЗАО «Синтол» г. Москва) и последующим секвенированием по методике Л.С. Карань, 2007 г. Расшифровка нуклеотидных последовательностей проводилась на генетическом анализаторе ABI Genetic Analyzer 3500 xL (Applied Biosystems, Япония) с набором реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v.3.1 (Applied Biosystems, США). Нуклеотидные последовательности анализировали в BioEdit v.7.0.9.0.

В 2016–2017 гг. для изоляции и идентификации вируса КЭ в Референс-центр по мониторингу возбудителей природно-очаговых инфекций при ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора поступали пробы секционного материала (отделы мозга) от больных с диагнозом «Клещевой энцефалит» и «Энцефалит неуточненной этиологии» с летальным исходом из Красноярского и Забайкальского краев. В Красноярском крае зарегистрировано девять летальных исходов, из

них три – в 2016 г. и шесть – в 2017 г. Предположительные места заражения: Курагинский, Шушенский, Березовский, Балахтинский, Козульский районы края и один – в окрестностях Алтайского края с 06 мая по 13 июня. В Забайкальском крае в 2017 г. зарегистрировано два случая гибели от КВЭ и один летальный исход с неуточненной этиологией. Заражение произошло на территориях Красночикийского, Могочинского и Приаргунского районов края. Во всех случаях заболевание не носило профессионального характера и выявлено у пенсионеров, неработающих, воспитателя ДДУ, служащего банка, проводника, учащихся. В анамнезе в девяти случаях из 12 отмечены единичные или множественные укусы клещей, либо факт наползания во время работы на собственных приусадебных участках, отдыха, сбора дикоросов. По поло-возрастному признаку в Красноярском крае женщины (66,6 %) болели чаще мужчин (33,4 %) в возрастных группах 0–39, 40–49, 50–59, 60 и старше. В Забайкальском крае все случаи КВЭ с летальным исходом выявлены среди мужчин (100 %) в возрастных группах 7–17 и 40–49 лет. Начало заболевания острое, с повышением температуры тела до 38–40 °С, с головной болью, общей слабостью и слабостью в нижних конечностях, тошнотой, рвотой, парезами и другой неврологической симптоматикой с утяжелением состояния в короткие сроки. У одного больного из Красноярского края отмечено постепенное развитие заболевания с преимущественным синдромом бульбарных нарушений и последующее присоединение общетоксического и глазодвигательного синдромов. Летальный исход наступал на 5–27 сутки от начала болезни и лишь в одном случае – на 50 день у больной из Красноярского края с диагнозом «Клещевой диффузно-очаговый некротизирующий энцефалит. Клещевой боррелиоз». Основные формы болезни КВЭ – менингоэнцефалитическая, менингоэнцефаломиелитическая и менингоэнцефалополиомиелитическая. У двух больных из Красноярского края отмечена сочетанная форма инфекции клещевого вирусного энцефалита и клещевого боррелиоза. В Забайкальском крае у одного больного клинический диагноз определен как «Криптогенная эпилепсия», при патологоанатомическом исследовании диагноз «Энцефалит неуточненной этиологии». Все умершие не вакцинированы против КВЭ, специфическая иммуноглобулинопрофилактика не проводилась. При лабораторном исследовании

проб крови IgM к вирусу КЭ обнаружены у 10 человек из 12, IgG – у семи. У двух человек с сочетанной формой инфекции обнаружены IgM и G к вирусу КЭ и боррелиям, а также ДНК боррелий в пробах ликвора. При исследовании секционного материала (различные отделы мозга) антиген вируса КЭ выявлен в пробах от шести больных, РНК вируса КЭ – в пробах от 10 больных из 12. Идентификация РНК вируса КЭ из мозговых суспензий секционного материала проводилась с помощью амплификации фрагмента гена E (211 п.н.) и последующего секвенирования по методике Л.С. Карань с соавт. (2007 г.). Установлено, что очаговые формы КВЭ с летальным исходом в Красноярском крае обусловлены вирусом КЭ сибирского субтипа группы «Заусаев». В одной пробе удалось расшифровать полноразмерный ген E (1488 п.н.) вируса КЭ. Идентичность с прототипным штаммом «Заусаев» составила 96 %. Пробы из Забайкальского края оказались более разнообразными. Установлено, что менингоэнцефалитическая форма КВЭ с летальным исходом у больного из Красночикийского района обусловлена вирусом КЭ дальневосточного субтипа. Полученный РНК-изолят со специфичными праймерами от больного с диагнозом «Криптогенная эпилепсия» из Приаргунского района определен как вирус КЭ сибирского субтипа группы «Васильченко». Наибольший интерес представляли образцы от больного из Могочинского района, у которого обнаружена РНК вируса КЭ двух субтипов, причем в пробах ствола и белого вещества головного мозга определена РНК вируса КЭ дальневосточного субтипа, тогда как в тканях подкорковых структур типирован вирус КЭ сибирского субтипа группы «Заусаев».

Таким образом, в Красноярском крае с наиболее высокой интенсивностью эпидемического проявления очагов КВЭ ежегодно регистрируется от двух до восьми случаев заболеваний с летальным исходом, обусловленные вирусом КЭ сибирского субтипа группы «Заусаев». В Забайкальском крае показатель заболеваемости в три раза ниже, чем в Красноярском крае, при этом ежегодно регистрируется от одного до шести случаев КВЭ с летальным исходом, обусловленные вирусом КЭ дальневосточного и сибирского субтипов группы «Васильченко» и «Заусаев». Кроме того, описано микст-инфицирование больного разными субтипами вируса, с дальнейшей их детекцией и идентификацией из различных отделов мозга.

ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* С ПОМОЩЬЮ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

Различные виды иерсиний относятся к I, III и IV группам патогенности. *Yersinia pseudotuberculosis* относится к роду *Yersinia* семейства *Enterobacteriaceae*, в который включены 17 видов иерсиний, включая еще два патогенных для человека вида: *Y. enterocolitica* и *Y. pestis*. Геномы этих микроорганизмов проявляют значительную степень гомологии. Заболевание, вызываемое *Y. pseudotuberculosis*, получило широкое распространение в мире, но более характерно для стран с холодным зимним климатом. Псевдотуберкулезом заболевают все возрастные группы, в меньшей степени болеют дети до 3 лет и взрослые старше 50 лет. Клинические проявления псевдотуберкулеза чрезвычайно полиморфны, при этом заболевание может протекать как в острой, так и хронической формах, характеризоваться различной степенью тяжести или протекать бессимптомно.

Описан 21 серовар *Y. pseudotuberculosis*, различающийся по антигенным эпитопам термостабильного O-антигена и H-антигена (флагеллина). В частности, внутри вида выделяют 15 серотипов (O:I-O:XV) и 10 подсеротипов (O:Ia-c, O:II a-c, O:IVa-b, O:Va-b). По H-антигену выделяют 5 серогрупп (a, b, c, d, e). Результаты многолетних наблюдений показали, что эпидемическое значение в патологии человека имеют лишь одиннадцать сероваров (O:Ia, O:Ib, O:Ic, O:IIa, O:IIb, O:IIc, O:III, O:IVa, O:IVb, O:Va, O:Vb), поскольку именно они наиболее часто выделяются от больных людей. Бактерии других сероваров (O:VI – O:XV) обнаружены лишь в наземных или водных экосистемах, а также у мелких млекопитающих. Наибольшую опасность для человека на территории России представляют I, III и IV серовары.

Разделение возбудителя псевдотуберкулеза на различные серовары основано на отличиях в структуре термостабильного O-антигена, представляющего собой липополисахаридный комплекс с белками наружной мембраны. Установлено также, что композиция белков наружных мембран *Y. pseudotuberculosis* характеризуется наличием как видоспецифических, так и серогруппоспецифических белков.

Целью данной работы было изучение белкового профиля патогенных сероваров *Y. pseudotuberculosis* с использованием информативного, чувствительного и точного метода – MALDI-ToF масс-спектрометрии. Спектры штаммов *Y. pseudotuberculosis* входят в базу микроорганизмов

«Bruker Daltonics», что позволяет использовать метод MALDI-ToF масс-спектрометрии для идентификации возбудителя.

Объектом исследования явились штаммы H 141/84 (17844), H 706/86 (17845), H 143/84 (17848), H 460/86 (17849), H 146/84 (17850), H 452/86 (17851), H 715/86 (17852), H 719/86 (17853), H 450/86 (17854), по паспортным данным относящиеся к сероварам O:Ia, O:Ib, O:IIb, O:IIc, O:III, O:IVa, O:IVb, O:Va, O:Vb. Штаммы культивировали на 2%-ном агаре Хоттингера при 28 °C, все культуры росли в S-форме, были типичны по морфологическим, серологическим и биохимическим свойствам.

Получение спектров исследованных культур методом MALDI-ToF масс-спектрометрии проводили с использованием масс-спектрометра «Autoflex speed III Bruker Daltonics» (Германия) и программного обеспечения «Flex Control», идентификацию – с помощью программы «Biotyper». Белки экстрагировали этанолом/муравьиной кислотой, в качестве матрицы использовали α-циано-гидроксикоричную кислоту. Конвертацию полученных raw-файлов проводили с использованием программы «ProteoWizard». Нормализацию и выравнивание пик-листов проводили с помощью программы «MassUp». Построение дендрограммы проводили с использованием программы «MALDI-Tree» (ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора). При этом соседние пики, отличающиеся на 3 и менее m/z, расценивали как один и тот же пик.

Поскольку спектры штаммов возбудителя псевдотуберкулеза входят в базу микроорганизмов «Bruker Daltonics», метод MALDI-ToF масс-спектрометрии может использоваться для идентификации возбудителя. Используемые в работе штаммы были идентифицированы программой «Biotyper» как *Y. pseudotuberculosis* со значениями Score выше 2,300 (т.е. с высокой достоверностью). Анализ белковых профилей *Y. pseudotuberculosis* позволил выявить около 50 общих для всех сероваров белков со значениями m/z от 2172 до 12465, при этом наиболее интенсивными были общие пики 4350, 4635, 4832, 5529, 6231, 7276, 9270 и 9664. Кроме того, для каждого серовара были обнаружены от 1 до 7 специфических белков, однако относительная интенсивность серовароспецифических пиков была значительно ниже, чем видоспецифических.

Так, например, для штамма H 141/84 (17844) серовара O:1a были определены маркеры с m/z 3608, 4535, 4824, 6220, 7218, 7862, отсутствующие у других штаммов. Интерес также вызывает факт обнаружения нескольких белковых пиков общих для серовара O:1b и O:1Va (m/z 5385, 5414, 6270), что позволило нам предположить возможность типирования штаммов *Y. pseudotuberculosis*, принадлежащих к разным сероварам на основе анализа белковых маркеров.

Проведенные исследования демонстрируют возможность подтверждения видовой принадлежности штаммов возбудителя псевдотуберкулеза с помощью метода MALDI-ToF масс-спектрометрии. Кроме того, благодаря высокой степени достоверности метод MALDI-ToF масс-спектрометрии может использоваться в качестве экспресс-анализа для идентификации возбудителя псевдотуберкулеза, представляя собой дополнение к традиционным лабораторным методам диагностики.

СОЛНЦЕВ Л.А., ФИЛАТОВА Е.Н.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ДЕКОМПОЗИЦИИ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА МОДЕЛИРОВАНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ УРОВНЯ ИНФЕКЦИОННОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

Оптимизация методов мониторинга и прогнозирования инфекционной заболеваемости является актуальной задачей современной эпидемиологии. На сегодняшний день большинство статистических методов, применяемых при идентификации и прогнозе эпидемического процесса, основано на анализе временных рядов. Как правило, анализ инфекционной заболеваемости сопровождается рядом трудностей, вызванных множеством закономерных и случайных факторов, влияющих на эпидемический процесс. К закономерным факторам относятся биология возбудителя и/или переносчика инфекционного агента, состояние иммунной системы реципиента, изменения условий окружающей среды, социальные параметры и многие другие. К случайным факторам относятся аварии на объектах жизнеобеспечения, стихийные бедствия и иные непредсказуемые явления. Отсутствие возможности учета всех переменных негативно сказывается на качестве моделей и на точности прогноза уровня заболеваемости.

Применение методов декомпозиции временного ряда позволяет разделить исходный ряд на составляющие части: тренд, сезонную и случайную компоненты. В отношении временного ряда уровня заболеваемости при определенном приближении можно сказать, что тренд характеризует многолетние изменения показателя, сезонная компонента описывает его закономерные колебания в пределах календарного года или квартала, а случайная компонента отражает нерегулярные колебания уровня заболеваемости. Каждую составляющую компоненту временного ряда можно использовать для построения предсказательной модели. При

этом каждая компонента обладает своими отличительными характеристиками, влияющими на выбор наиболее адекватной модели. Вследствие этого ожидаемая точность модели, полученной с помощью декомпозиции, должна быть выше по сравнению с точностью модели, полученной при анализе исходного временного ряда.

Целью данной работы явилась оценка возможности применения метода декомпозиции для улучшения качества моделирования и прогнозирования уровня инфекционной заболеваемости.

Нами были проанализированы временные ряды уровня заболеваемости тремя инфекционными патологиями: инфекционный мононуклеоз (ИМ), геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) и острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации (ОРВИ). Данные о первичной заболеваемости были получены из электронного ресурса «Эпидемиологический атлас ПФО». Использовали ежемесячные значения заболеваемости на интервале 2010–2016 гг. для города Нижний Новгород и для контингента «все жители». В качестве обучающей выборки использовали данные за период 2010–2015 гг., в качестве тестовой выборки – данные за 2016 г.

Моделирование уровня заболеваемости проводили с применением интегрированной модели авторегрессии – скользящего среднего (SARIMA). В работе использовали функцию `auto.arima` пакета «forecast» для языка R. Подбор оптимальных параметров моделей осуществлялся автоматически. В модели без декомпозиции (МБД) в качестве исходного временного ряда использовали данные о

заболеваемости без предварительной обработки. В модели с декомпозицией (МСД) предварительно проводили декомпозицию исходного временного ряда с выделением тренда, сезонной и случайной компонент. Процедура декомпозиции была выполнена с использованием метода X13-ARIMA-SEATS, разработанного Бюро переписи США (US Bureau of the Census, <http://www.census.gov/srd/www/x13as/>). Метод был реализован с применением функции `seas` пакета «seasonal» для языка R. Итоговую МСД получали путем сложения моделей тренда и сезонной компоненты. Моделирование случайной компоненты не проводили. Для оценки сравнения полученных МБД и МСК использовали показатели средней абсолютной ошибки (MAE) и средней абсолютной процентной ошибки (MAPE). Для оценки прогностической способности модели применяли параметр средней абсолютной масштабируемой ошибки (MASE).

Нами проведено моделирование динамики уровня заболеваемости ИМ, ГЛПС и ОРВИ в городе Нижний Новгород методом ARIMA с применением предварительной декомпозиции временного ряда и без предварительной обработки. По результатам

тестирования были отобраны следующие модели (для моделей МСД приведены типа моделей для тренда и для сезонной компоненты):

- для ИМ – МБД ARIMA(0,1,1)(2,1,0)[12] (MAE = 0,251, MAPE = 40,675, MASE = 1,083) и МСД ARIMA(3,1,2)+ARIMA(0,0,1)(2,1,0)[12] (MAE = 0,243, MAPE = 39,154, MASE = 0,877)
- для ГЛПС – МБД ARIMA(4,1,0)(1,1,0)[12] (MAE = 0,324, MAPE = 60,385, MASE = 0,898) и МСД ARIMA(5,1,0)+ARIMA(0,0,0)(2,1,0)[12] (MAE = 0,186, MAPE = 34,375, MASE = 0,747);
- для ОРВИ – МБД ARIMA(3,1,0)(1,1,1)[12] (MAE = 321,883, MAPE = 12,671, MASE = 1,37) и МСД ARIMA(3,1,0)(0,0,1)[12]+ARIMA(0,0,0)(2,1,0)[12] (MAE = 223,367, MAPE = 7,399, MASE = 1,218).

Таким образом, процедура декомпозиции и исключение случайной компоненты из временного ряда заболеваемости привела к улучшению относительных точности и прогностической способности модели для всех изученных патологий. Полученные результаты можно объяснить сглаживанием исходного временного ряда и улучшением адаптации модели к характеру изменения моделируемой величины.

СОЛОМЕНЦЕВ В.И., КИСЛИЧКИНА А.А., КАДНИКОВА Л.А., МАЙСКАЯ Н.В.,
БОГУН А.Г., АНИСИМОВ А.П.

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ДЕПОНИРОВАННЫХ В ГОСУДАРСТВЕННОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ ОБОЛЕНСК»

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора,
Оболенск

Секвенирование следующего поколения (next generation sequencing, NGS), является относительно молодым и одним из наиболее стремительно развивающихся методов молекулярно-генетических исследований. Основным преимуществом этого метода является получение огромного массива генетических данных за сравнительно небольшие сроки – производительность некоторых секвенаторов достигает сотен миллиардов пар оснований. Широкое применение технологии NGS нашли в бактериологии. Метод позволяет анализировать геномы и транскриптомы бактериальных культур и выполнять генотипирование, – чрезвычайно важные процедуры для поиска новых молекулярных мишеней для лечения и профилактики заболеваний, исследования популяционной динамики микроорганизмов, определения генов, участвующих в синтезе факторов патогенности и антибиотикоустойчивости.

Наиболее опасным инфекционным заболеванием бактериальной этиологии, с которым столкнулось человечество, является чума, ставшая причиной трех пандемий, и вызвавшая гибель более 200 миллионов человек. В настоящее время чума признана возвращающейся инфекцией и продолжает представлять угрозу для здравоохранения. Возбудителем чумы является грамотрицательная бактерия *Yersinia pestis*. В составе вида *Y. pestis* выделяют принципиально отличающиеся по вирулентности подвиды: основной (subsp. *pestis*), штаммы которого высоковирулентны для человека и не основной (subsp. *microti*), представленного слабовирулентными для человека штаммами. Кроме того, продолжительная циркуляция в условиях различных природных очагов, привела к накоплению различий в генотипе и фенотипе различных групп *Y. pestis*. Изучение многообразия штаммов чумного микроба и его свойств на данном этапе невозможно без применения со-

временных методов молекулярно-генетических исследований, таких как NGS.

В период с 2016 г. по настоящее время мы провели полногеномное секвенирование 44 штаммов *Y. pestis*. Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kit v3 (300 cycle) в соответствии с рекомендациями производителя («Illumina», США).

Из анализированных штаммов 21 относился к основному подвиду *pestis*, из которых 16 принадлежали к биовару *antiqua* и пять – к биовару *medievalis*. К неосновному подвиду *microti* относились 23 штамма, включая 11 штаммов биовара *altaica*, восемь штаммов биовара *caucasica*, два штамма биовара *ulegeica*, два штамма биовара *xilingolensis* и один штамм биовара *talassica*.

Полученные нами архивы в среднем содержали 776 448 прочтений и 145 828 186 нуклеотидов, среднее покрытие составило 50,5.

Полученные прочтения были собраны в контиги при помощи программ Newbler 2.9 и SPAdes 3.9.0, для каждого штамма было получено от 183 до 527 контигов.

Также было установлено наличие родооспецифичной плазмиды pCD1 и видоспецифичных rPCP1 и rMT1 для исследуемых штаммов.

Номера доступа депонированных в NCBI последовательностей: AYLS01, LFXP01, LGRJ01, LIXY01, LIXX01, MIDZ01, MIDY01, MIEA01, MIEB01, MIDX01, MIEE01, MIEC01, MIED01, MTZW01, MTZY01, MTZX01, MTZZ01, NHYJ01, NHYI01, NHYN01, NHMW01, NHMY01, NHNA01, NHMX01, NHMZ01, NHHB01, NHNE01, NHNC01, NHND01.

Работа выполнена в рамках проекта РФФ № 14-15-00599 от 26.06.2014 г. «Поиск факторов избирательной вирулентности полевочьих штаммов *Yersinia pestis*», научный руководитель темы д.м.н., проф. А.П. Анисимов, № государственной регистрации 114072170076 от 21.07.2014 г.

СТАРЧЕВСКАЯ М.Е., НЕПОМНЯЩИХ Т.С., ЯКУБИЦКИЙ С.Н., ТАРАНОВ О.С.,
АНТОНЕЦ Д.В., ЩЕЛКУНОВ С.Н.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИН-1-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА ВИРУСА ОСПЫ КОРОВ IN VITRO И IN VIVO

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора,
р.п. Кольцово, Новосибирская обл.

Аутоиммунные заболевания относятся к числу наиболее тяжелых заболеваний человека. В патогенезе большинства из них наблюдается гиперпродукция интерлейкина-1 β (IL-1 β), который индуцирует образование других агентов, приводящих к системному воспалению. Одним из подходов к терапии данных заболеваний является ингибирование IL-1 β . Вирусы в процессе эволюции включали в состав своего генома кодирующие последовательности различных генов, модифицировали их для эффективного подавления иммунной системы организма хозяина. Представители рода *Ortopoxvirus* кодируют ряд белков – иммуномодуляторов. В частности, анализ нуклеотидных последовательностей геномов многих ортопоксвирусов выявил открытые рамки трансляции белков, имеющих высокую гомологию с клеточным рецептором IL-1 β . Вирус оспы коров является наиболее эволюционно приспособленным среди изученных ортопоксвирусов, поддерживая баланс между патогенным воздействием на организм хозяина и возможностью продуктивного развития вируса в организме в течение длительного времени. В отличие от других представителей данного рода,

для вируса оспы коров выявлена открытая рамка трансляции IL-1-связывающего белка (IL-1-VP), который ингибирует IL-1 β . У других представителей рода *Ortopoxvirus* эта рамка частично удалена из генома. Таким образом, исследование данного вирусного белка может привести к созданию нового анти-IL-1 β препарата.

Одним из способов обеспечения долговременной экспрессии гена является иммунизация ДНК-вакцинами. Цель настоящего исследования – изучение продукции IL-1-VP вируса оспы коров в составе плазмиды pCDNA/IL-1-VP *in vitro* и *in vivo*.

Был проведен сравнительный анализ аминокислотных последовательностей, кодируемых геном IL-1-VP, 22 штаммов вируса оспы коров, степень гомологии последовательностей составила около 95 %. В качестве референса использовали ген B14R вируса оспы коров (штамм GRI-90). На наиболее близкой к B14R структуре рецептора IL-1 идентифицировали аминокислотные остатки, участвующие в связывании IL-1 β . Показана высокая консервативность исследуемых белков, функционально значимые районы IL-1-VP практически не содержат аминокислотных замен, относительно B14R.

Была получена рекомбинантная плаزمида pсDNA/IL-1-BP для экспрессии IL-1-BP *in vitro* и *in vivo*. Одним из подходов к изучению экспрессии белка является оценка продукции мРНК и визуализация биологических эффектов белкового продукта. Для оптимизации условий использовали ген зеленого флуоресцентного белка (GFP), заключенный в тот же вектор экспрессии pсDNA, что и ген IL-1-BP. Клетки CV-1 трансфицировали плазмидами pсDNA/IL-1-BP или pсDNA/GFP. Визуализировали продукцию GFP методом флуоресцентной микроскопии. Выделяли мРНК и проводили ОТ-ПЦР для

качественной оценки продукции мРНК *in vitro*. Проводили инъекцию морским свинкам рекомбинантных плазмид pсDNA/IL-1-BP или pсDNA/GFP. Визуализировали продукцию GFP методом флуоресцентной микроскопии. Выделяли мРНК и проводили ОТ-ПЦР для качественной оценки продукции мРНК *in vivo*. В результате исследования показана продукция *in vitro* и *in vivo* рекомбинантного IL-1-BP вируса оспы коров штамма GRI-90.

В дальнейшем полученная рекомбинантная плазмида pсDNA/IL-1-BP может стать основой для создания терапевтической ДНК-вакцины.

СТЕПАНОВА А.Э.

АНАЛИЗ И ПРОГНОЗ ЭПИДЕМИЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ И ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

ФБУН «Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены» Роспотребнадзора,
Новосибирск

Распространенность злоупотребления наркотическими препаратами в Российской Федерации в течение последних 30 лет росла высокими темпами и приобрела характер эпидемии, сопряженной с ростом заболеваемости гемоконтактными вирусными инфекциями. В Новосибирской области, где среднее многолетнее значение первичной заболеваемости наркоманиями в 1,7 раза выше среднего по России, регистрируется 2–3-кратное превышение среднероссийского уровня заболеваемости хроническими гепатитами и ВИЧ-инфекцией. Основное место в структуре заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами занимал хронический гепатит С, инфицирование генотипами которого в 50 % случаев осуществляется в условиях наркотического контакта. Целью исследования являлся анализ и прогноз эпидемий ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С в Новосибирской области для обоснования системы противоэпидемических мероприятий.

При графическом отображении эпидемий наркоманий и ВИЧ-инфекции в Новосибирской области в период от 2003 до 2015 гг. кривые абсолютных чисел больных наркоманиями и ВИЧ-инфекцией, состоящих на учете, постепенно сближаясь, пересекаются в 2011 г. и затем резко расходятся, образуя «крест». Эпидемиологические расследования путей передачи установили, что удельный вес потребителей инъекционных наркотиков в общей структуре заразившихся ВИЧ-инфекцией в период от 2003 до 2010 гг. равнялся 67,1 %. В 2012 г. пересечение кривых абсолютных чисел больных наркоманиями и парентеральными вирусными гепатитами образует второй «крест». Сильные положительные связи между временны-

ми рядами абсолютных чисел больных с впервые в жизни установленными диагнозами ВИЧ-инфекции, хронического гепатита С и абсолютных чисел больных наркоманиями, состоящих на учете ($r = 0,980$ и $r = 0,780$, $p < 0,05$) подтверждали, что активность эпидемических процессов ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С в 2003–2010 гг. детерминирована эпидемией наркоманий. В 2011–2015 гг. корреляционная связь между временными рядами больных наркоманиями и ВИЧ-инфекцией приобрела обратный знак ($rs = -0,9$, $p < 0,05$), между временными рядами больных хроническим гепатитом С и наркоманиями отсутствовала.

Анализ типов графических изображений с применением пакета программ Statistica 10.0 установил, что в период от 2004 по 2010 гг. временной ряд первичных случаев ВИЧ-инфекции аппроксимируется S-образной (логистическая) кривой. Эпидемиологический смысл S-образной модели эпидемического процесса ВИЧ-инфекции состоит в том, что темпы роста инфицирования вирусом иммунодефицита человека в 2004–2010 гг. зависели от комплекса внутренних и внешних условий. После замедления скорости роста в 2010 г. S-образная кривая выходила на плато, отражая фазовый переход – переход эпидемии ВИЧ-инфекции от режима роста к стабилизации первичных случаев на уровне 3-х тысяч человек. При реализации негативного сценария в будущем эпидемия способна развиваться в другом темпе и на другом уровне. Временной ряд абсолютных чисел больных с впервые в жизни установленным диагнозом хронического гепатита С в период от 2004 по 2010 гг. хорошо аппроксимировался кривой параболы третьего порядка.

После завершения фазового перехода эпидемии ВИЧ-инфекции в генерализованную стадию в период от 2011 по 2015 гг. численность популяции больных ВИЧ-инфекцией стремилась к соответствию с новой, более высокой емкостью популяционной системы общего населения, что отражала кривая роста, аппроксимируемая параболой третьего порядка. Зависимость активности эпидемического процесса хронического гепатита С от времени в 2011–2015 гг. также достаточно точно описывалась уравнением параболы третьего порядка. Установленная параболическая зависимость активности эпидемического процесса хронического гепатита С от времени в контексте среднесрочного прогноза предполагает в последующие годы постепенное угасание активности эпидемии. Учитывая параболическую зависимость активности эпидемического процесса ВИЧ-инфекции от времени в 2011–2015 гг. и принимая за вершину параболы уровень 2014 г., в рамках краткосрочного прогноза в ближайшие годы следует ожидать некоторое снижение количества первичных случаев ВИЧ-инфекции. Однако надежный прогноз поведения эпидемического процесса ВИЧ-инфекции на будущее можно выстроить только после формирования предсказуемого тренда.

Оценка эффективности противоэпидемических мероприятий требует применения концепции доказательной медицины, методической основой которой является клиническая эпидемиология. Для оценки эпидемиологической ситуации, сложившейся в 2011–2015 гг., выбран показатель относительного риска, достоверно оценивающий силу связи между воздействием и эффектом. Сравнение относительных рисков заболевания ВИЧ-инфекцией среди населения Новосибирской области выявило статистически значимое увеличение вероятности заболевания в 2013, 2014 и 2015 гг. по

сравнению с уровнем 2010 г. Сравнение рисков заболевания хроническим гепатитом С подтвердило статистически значимое снижение вероятности заболеваемости данной нозологической формой гепатитов в 2011 и 2015 гг. по сравнению с 2010 г. Вероятность заболевания хроническим гепатитом С среди населения Новосибирской области в 2012, 2013, 2014 гг. не отличалась от уровня 2010 г.

Таким образом, эпидемия наркоманий в Новосибирской области создала необходимые и достаточные условия для развития эпидемических процессов ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С, активность которых в 2004–2010 гг. приобрела устойчивую тенденцию к росту. Накопление контингента больных ВИЧ-инфекцией создало реальные предпосылки для перехода эпидемии в генерализованную стадию, представляющую особую опасность для общественного здоровья. Эпидемия хронического гепатита С, отличающегося исходами в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному, также относится к неблагоприятной тенденции общественного здоровья, требующей больших затрат на лечение и реабилитацию. В связи с тем, что значимым источником неопределенности в 2011–2015 гг. оставалась наркологическая ситуация, управление эпидемическим процессом ВИЧ-инфекции и хронического гепатита С предполагает осуществление мер по подавлению эпидемии наркоманий, в первую очередь, за счет усиления контроля за оборотом синтетических наркотиков со стороны правоохранительных органов и улучшения выявляемости больных наркоманиями. Разработка и внедрение программ первичной профилактики аддиктивного поведения детей и подростков в Новосибирской области, направленных на повышение их невосприимчивости к потреблению наркотиков, существенно снизит риск заражения ВИЧ-инфекцией и хроническим гепатитом С.

СУЛТАНОВА А.Р.

ЭПИЗООТО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БЕШЕНСТВУ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Управление Роспотребнадзора по Республике Башкортостан,
Уфа

Бешенство – острая вирусная болезнь млекопитающих, в том числе и человека, передающаяся при укусе или ослюнении поврежденных поверхностей или слизистых оболочек. По данным ВОЗ, от бешенства ежегодно умирает более 50 тыс. человек, и около 10 млн. людей делают антирабическую вакцинацию. В большинстве регионов Российской Федерации (РФ) эпизоотическая ситуация по бе-

шенству чрезвычайно сложна – резко активизировались природные очаги этой инфекции, увеличилось число случаев заболеваний среди различных видов животных, ежегодно регистрируются случаи заболевания людей с летальным исходом

Цель работы – выявить особенности в проявлениях эпизоотического и эпидемиологического процесса бешенства в Республике Башкортостан (РБ).

Материалы о случаях заболевания бешенством в РФ получены из государственных докладов «О санитарно-эпидемиологической обстановке в РФ» за 2001–2015 гг., докладов ФГУ ВНИИЗЖ ИАЦ Россельхознадзора г. Владимир «Эпизоотическая ситуация в РФ» за 2008–2015 гг.

Материалы о случаях бешенства в РБ получены из государственных докладов «О санитарно-эпидемиологической обстановке в РБ» за 2001–2015 гг., формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2001–2015 гг., временной отчетной формы Управления Роспотребнадзора по РБ «Сведения об организации антирабической помощи населению и профилактике бешенства» и сведений из Управления Ветеринарии РБ «Информация по профилактике бешенства среди животных» за 2011–2015 гг.

Для анализа эпидемиологической ситуации применили метод ретроспективного анализа.

В Российской Федерации за 2001–2015 гг. зарегистрировано 56360 случаев заболевания бешенством животных в 47689 населенных пунктах. В Республике Башкортостан за аналогичный период зарегистрировано 2569 случаев заболевания бешенством в 2099 населенных пунктах.

В РФ в динамике наблюдается стабильное снижение неблагополучных пунктов по бешенству и случаев бешенства животных. В РБ наблюдается выраженная тенденция снижения, если до 2010 г. регистрировалось около 500 случаев бешенства животных в год, то после 2011 г. – не более 30 случаев в год.

Эпизоотия бешенства сохраняет выраженный природный характер. Основными резервуарами и распространителями рабического вируса остаются дикие животные (около 50 %): лисы, волки, енотовидные собаки, грызуны. В динамике наблюдается параллельное изменение случаев бешенства среди диких, домашних и сельскохозяйственных животных. При увеличении числа случаев бешенства диких животных наблюдается и рост случаев бешенства среди домашних и сельскохозяйственных животных – имеется достоверная с вероятностью $p > 99\%$ прямая и сильная связь. Таким образом, активизация природных очагов способствует вовлечению в эпизоотический процесс домашних и сельскохозяйственных животных.

В РБ основную долю в структуре занимали сельскохозяйственные животные, примерно равные доли составляли дикие и домашние животные. С 2011 г. с введением обязательной иммунизации сельскохозяйственных животных против бешенства доля последних в структуре сильно уменьшается. Параллельно обостряется проблема безнадзорности домашних животных, соответственно возрастает риск формирования «городского» очага бешенства (до 67 % случаев в видовой структуре).

В Республике Башкортостан проводятся мероприятия по профилактике бешенства животных:

отлов безнадзорных животных, а также иммунизация как домашних, так и диких животных. Проанализировав в динамике проведенные мероприятия и случаи бешенства животных, можно утверждать, что заболеваемость бешенством обратно зависима, профилактические мероприятия эффективны, однако длительность их ограничивается текущим годом. В те годы, когда проводилась иммунизация животных, случаи заболевания животных бешенством резко уменьшались. Таким образом, необходимо ежегодно проводить профилактические мероприятия, в приоритете выбрать вакцинацию животных. Также необходимо проводить иммунизацию одновременно на всей территории, что снизит риск появления эпизоотических очагов бешенства

В Российской Федерации эпидемиологическая обстановка по бешенству остается неблагополучной. Однако в последние годы наблюдается некоторое снижение случаев гидрофобии. Так, если в РФ в 2001 г. 22 человека заболело гидрофобией, то в 2015 г. – всего 6 человек, что свидетельствует о качестве оказываемой антирабической помощи и ее своевременности, информированности населения о рисках, связанных с контактами с животными.

В РБ за последние 15 лет зарегистрировано всего 3 случая бешенства с летальным исходом. Причинами заболевания и смерти от бешенства явились:

- самостоятельное прекращение курса антирабического лечения;
- тяжесть и локализация повреждений;
- несвоевременное обращение за антирабической помощью.

Среднемноголетний показатель обращаемости по поводу укусов животными в Республике Башкортостан составил $297,8 \text{ ‰}$, наблюдается тенденция снижения обращаемости. Основными видами животных, нанесших повреждения, явились домашние животные – около 96 %, на долю диких и сельскохозяйственных животных приходилось лишь 1–3 %. Среди домашних животных чаще всего повреждения были получены от домашних собак (при неправильном содержании хозяевами) – до 50 %, и от безнадзорных собак – около 25 %, реже от домашних и безнадзорных кошек – до 18 и 7 % соответственно. Среди диких животных основную долю составляют лисы – около 35 % и грызуны – 40 %.

Снижение обращаемости населения по поводу укусов, оцарапываний и ослюнений животными, единичные случаи заражения бешенством людей, снижение числа случаев бешенства среди животных указывают на эффективность проводимых профилактических мероприятий: отлова безнадзорных животных, вакцинации домашних, сельскохозяйственных и диких животных, оказания своевременной антирабической помощи, проведения санитарно-просветительской работы среди населения.

ДЕТЕКЦИЯ И СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОВ ХИТИНАЗ *CHI A И CHI C FRANCISELLA TULARENSIS*

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Туляремия – зоонозная инфекция, циркулирующая в разнообразных биоценозах, способная вызывать массовые эпидемические вспышки и эпизоотии. В экологии туляремии микроба большую роль играют механизмы сохранения его в объектах окружающей среды. Один из них, образование биопленки, является у *Francisella tularensis* важной физиологической характеристикой и способствует сохранению возбудителя на поверхности хитина.

Актуальность исследования заключается в изучении механизма *F. tularensis* деградировать и использовать в процессе жизнедеятельности хитин и его производные. Способность *F. tularensis* выживать, используя хитин в качестве единственного источника углерода, зависит от ферментов хитиназ. Показано, что мутанты, лишённые *chiA* или *chiB*, хуже колонизируют хитин и образуют биопленки в отсутствие экзогенного сахара. По данным иностранных авторов, в геноме *F. tularensis* присутствует четыре гена хитиназ – *chiA*, *chiB*, *chiC*, *chiD*. Однако у разных подвидов они находятся в различных функциональных состояниях – в виде активного гена, либо «молчащего» псевдогена.

Цель исследования – молекулярно-генетическая детекция фрагментов генов хитиназ туляремии микроба и биоинформационный анализ их нуклеотидной последовательности. Сравнение найденных последовательностей с международной базой данных GenBank.

В качестве объекта исследования использовалась ДНК восьми штаммов микроорганизмов трех подвидов *F. tularensis* subsp. *holarctica* И-250, И-391, 15В, И-126; subsp. *mediasiatica* 385, И-394; subsp. *novicida* 383, 384. К гену *chiA* использованы праймеры: FTT_0715F (GCT AGC ATG AAC AAA ACA AAA TTA GTC TCA GTA G); FTT_0715R (GTC GAC TTG TTT TTC CCA AAC ATT AC); FTT_0715_1 (GTA TGG AAA ACT TTG STA AGC AGT); FTT_0715_2 (GTT GCA TTG STA CTT TAC CGT ACT TGT TAA), к гену *chiC* использованы праймеры: 1592F (ACT AGT GTG ACT GGA TAT AAA GCT ATC) и 1592R (CTC GAG TTT AGA AGT ATA CTT TTC TTG AG). Температура отжига праймеров рассчитывалась по программе PCR Primer Stats. Амплификация фрагментов проводилась на термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия) по программе: 98 °С – 2 мин.; 30 циклов: 98 °С – 10 сек., 56 °С – 5 сек., 72 °С – 2 мин. 30 сек.; хранение 4 °С. Детекция ампликонов проводилась

в 1%-ном агарозном геле, 1-кратном ТБЕ-буфере, 160 В, 30 минут. Учет результатов – в проходящем УФ-свете. Очистка ампликонов выполнялась с применением набора «Exonuclease I» (Thermo scientific, США) согласно инструкции. Определение концентрации ДНК проводилось спектрофотометрическим методом на приборе «NanoVue» (GE Healthcare, США). Секвенирующую реакцию ставили с набором «BrightDye Terminator Cycle Sequencing kit» (Nimagen, Нидерланды) и буфером для секвенирования «BrightDye Terminator 5X». Очистка секвенсных продуктов осуществлялась с применением смеси ацетата натрия, очищенного спирта и бидистиллированной воды. Фрагментный секвенс проводился на приборе «Genetic Analyzer» (Applied Biosystems, США). Биоинформационный анализ обнаруженных последовательностей проводился с помощью программного обеспечения «Chromas». Далее, откорректированные последовательности сравнивались с последовательностями базы данных GenBank.

Установлено, что гены хитиназ *chiA* и *chiC* амплифицируются у всех штаммов *F. tularensis*. Путем биоинформационного анализа установлено, что гены хитиназ состоят из нескольких доменов – карбогидрат-связывающего домена, хитин-связывающего домена и гликозил-гидролазы 18 семейства. Секвенированы последовательности генов *chiA*, *chiC* у всех взятых в исследование штаммов *F. tularensis*. При сопоставлении с данными GenBank, установлена 100%-ная гомология данных генов в пределах вида. Между подвидами гомология последовательности составляла 99 %, что, возможно, имеет значение для функционального состояния гена, и, соответственно, различной способности подвидов *F. tularensis* деградировать хитин.

Таким образом, фрагментный анализ секвенсных последовательностей генов *chiA*, *chiC* у ДНК восьми штаммов *F. tularensis* трех подвидов в сравнении с международной базой GenBank показал полное совпадение с имеющимися последовательностями в пределах вида. Нуклеотидная последовательность гена *chiA*, кодирующего хитиназу типа А вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15В (201), депонирована в GenBank под номером KY563318.1 от 12.02.2017 г.

Дальнейшие исследования будут направлены на изучение последовательностей других генов хитиназ – *chiB* и *chiD*, а также на эксперименталь-

ное подтверждение участия хитиназы в процессе жизнедеятельности *F. tularensis*. Исследования влияния активности *chi* генов *F. tularensis* на выжи-

ваемость микроба в окружающей среде позволят расширить круг знаний об экологии туляремийного микроба.

ТАКАЙШВИЛИ В.Е., ДУГАРЖАПОВА З.Ф., КРАВЕЦ Е.В., БАЛАХОНОВ С.В.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Одним из главных свойств спор сибиреязвенного микроба является высокая устойчивость в неблагоприятных условиях окружающей среды. На выживание микроба влияют состав и свойства различных типов почвы. Потенциально опасными для животных и человека являются почвы стационарно неблагоприятных по сибирской язве пунктов (СНП), сибиреязвенных скотомогильников и бывших скотогонных трасс. Для оценки биологической опасности неблагоприятных территорий необходим не только микробиологический мониторинг с целью проведения индикаторных исследований объектов окружающей среды, но и изучение питательных и токсических свойств почвы по отношению к сибиреязвенному микробу.

За 2011–2015 гг. проведен экологический и микробиологический мониторинг 74 СНП, сибиреязвенных скотомогильников и бывших скотогонных трасс на 30 административных территориях 10 субъектов Российской Федерации Сибири и Дальнего Востока. Обследованы территории с выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагоприятием (Республика Бурятия, Алтайский и Забайкальский края); средней степенью эпизоотолого-эпидемиологического неблагоприятия (Красноярский край и Иркутская область); относительным благополучием по сибирской язве (Республика Саха (Якутия), Амурская и Еврейская автономная области, Приморский и Хабаровский края). Всего отобраны и исследованы на наличие *Bacillus anthracis* и его генетического материала (ДНК) 1050 проб, из них почва – 1027, костные останки СХЖ – 23. После контроля безопасности по сибирской язве изучены токсичность и питательные возможности по отношению к сибиреязвенному микробу в 901 пробе почвы.

Вероятность сохранения сибиреязвенного микроба очень высока в почвах Республики Бурятия. Дерновые серые лесные с лугово-черноземными типами почв сибиреязвенного скотомогильника п. Селенгинск Кабанского района с нейтральной и слабощелочной реакцией среды (рН 5,1–7,9) обла-

дали высокими питательными свойствами (46,1 %) и не проявляли токсичность. Результаты обследования 174 проб почвы и шести проб костных останков СХЖ 15 объектов в 12 СНП Курумканского и Баргузинского районов показали, что основными резервуарами возбудителя сибирской язвы в окружающей среде остаются места сброса биологических отходов и сибиреязвенные захоронения (СЯЗ). Почвы обоих районов относятся к аллювиальным дерновым и каштановым типичным. В семи пробах обнаружены культуры, подозрительные на *B. anthracis*. Фрагменты ДНК внехромосомных элементов *B. anthracis* обнаружены в трех пробах почвы и костном фрагменте КРС, отобранных из почвенных очагов эпизоотии 2008 г., несанкционированного полигона биологических отходов и заброшенного скотомогильника. Полное отсутствие токсичности (100 %), оптимальный уровень кислотности (рН нейтральная 6,9–7,2) проб почв Баргузинского и Курумканского районов с преобладанием в них средних (37,1 %) и низких (35,1 %) питательных свойств по отношению к сибиреязвенному микробу показывает, что почва благоприятна для выживания и сохранения *B. anthracis*.

На территории восьми СНП четырех муниципальных образований Алтайского края отобрана 101 проба почвы. Кислотность черноземов обыкновенных и черноземов выщелоченных и оподзоленных оказалась слабощелочной рН (6,8–7,4). Питательные свойства образцов крайне низкие в 100 % случаев, а также отсутствовала токсичность (89,1 %) по отношению к сибиреязвенному микробу.

В 22 СНП четырех районов Забайкальского края исследована 71 проба почвы горного дерново-таежного типа. При исследовании показано, что в 71,8 % случаев (51) преобладают нетоксичные свойства. В пробах обнаруживались средние (45 %) и крайне низкие (55 %) питательные возможности со слабой, ближе к нейтральной, кислотностью (рН 5,6–7,0) для выживания и сохранения *B. anthracis*.

173 пробы почвы шести районов Красноярского края и 118 Иркутской области относились

к дерново-подзолистым типам. Преобладали образцы с низкими (52,5 %) и крайне низкими (32,5 %) питательными свойствами, в основном (64,1 %) нетоксичные с нейтральной pH (5,3–6,9) для сибирезвенного микроба.

На территории Приморского края обследовано семь муниципальных образований и отобрана 71 проба глинистых и суглинистых буроземов. Нетоксичными были 38 (53,2 %) проб, а 61,9 % проб имели крайне низкие питательные свойства. Концентрация водородных ионов слабокислая, ближе к нейтральной (pH 5,3–6,8). Из пробы почвы сибирезвенного захоронения с. Астраханка выделена культура *B. anthracis* с атипичными свойствами.

120 проб почвы Бикинского района Хабаровского края характеризовались буроземным типом со слабокислым (5,8) pH. Несмотря на преобладание средней токсичности (62,5 %) выявлены средние (51,6 %) и низкие (35,0 %) питательные свойства по отношению к сибирезвенному микробу.

В двух районах Амурской области, отобрано и исследовано 35 проб почв буроземного типа. 37,1 % образцов Зейского района были нетоксичны, имели крайне низкие питательные свойства и нейтральную кислотность (5,9–6,5). Пробы Бурейского района нетоксичны и обладали высокими питательными свойствами для *B. anthracis* при среднекислой реакции pH (4,2–5,6).

Проведены исследования 48 проб почвы палевого и торфяного типов Оймяконского района Рес-

спублики Саха (Якутия). Показатель кислотности образцов колебался от 6,9–7,8, в среднем составил 7,35, что соответствует щелочному уровню. Все изученные пробы почвы проявляли крайне низкие питательные свойства по отношению к сибирезвенному микробу, в пробах с торфяными почвами наблюдались высокие (14,8 %) и средние (46,8 %) токсические свойства.

Таким образом, при микробиологическом мониторинге 74 СНП, сибирезвенных скотомогильников и бывших скотопрогонных трасс 10 субъектов Сибири и Дальнего Востока в 0,6 % проб получены положительные результаты. Из пробы сибирезвенного захоронения выделена и идентифицирована культура *B. anthracis*. В трех пробах почвы и костном фрагменте СХЖ обнаружена ДНК сибирезвенного микроба. Выделение ДНК *B. anthracis* в местах падежа и эпизоотий сибирской язвы является индикатором потенциальной биологической опасности заброшенных объектов. Токсические свойства торфяных почв по отношению к сибирезвенному микробу, наряду с неблагоприятными условиями для вегетации возбудителя в окружающей среде, обнаружены в Республике Саха (Якутия).

Проведенные исследования показали, что споры сибирской язвы выживают, длительное время сохраняются и размножаются в различных типах почвы Баргузинской долины Республики Бурятия, западной части Приморского и Минусинской котловины Красноярского краев.

ТАЛАЕВА М.В.¹, ВОРОНИНА Е.В.¹, ТАЛАЕВ В.Ю.¹, ЛЕБЕДЕВ М.Ю.², ЖИВЦОВ О.П.²,
ЗАИЧЕНКО И.Е.¹, БАБАЙКИНА О.Н.¹

ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ КЛАССИЧЕСКИХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ОСТЕОМИЕЛИТЕ

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

² ФГБУ Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр Минздрава России, Нижний Новгород

Дендритные клетки (ДК) представляют собой антигенпрезентирующие клетки миелоидного происхождения. У человека выделяют две основные группы ДК: плазмцитоподобные ДК, которые совмещают умеренную способность к презентации антигенов с мощной продукцией интерферонов 1 типа, и классические ДК с выраженной способностью к сбору и презентации антигенов. В свою очередь, классические ДК также демонстрируют фенотипические и функциональные признаки гетерогенности. Одна из субпопуляций

ДК маркируется высоким уровнем экспрессии CD1c. Эти клетки присутствуют в лимфоидных и нелимфоидных тканях и могут созревать как из костномозговых предшественников, так и из моноцитов, с которыми они имеют сходный набор рецепторов для молекулярных паттернов патогенов (МПП) и сенсоров внутриклеточного заражения. CD1c⁺ ДК снабжены большим набором толл-подобных рецепторов для бактериальных, вирусных и грибковых паттернов. Эти ДК играют ведущую роль в презентации CD4⁺ Т-клеткам

материала бактерий, вирусов и вакцинных антигенов и могут обеспечивать дифференцировку различных типов Т-хелперов. В то же время, они обладают ограниченной способностью к рекрутированию CD8⁺ Т-клеток, в первую очередь, из-за слабой перекрестной презентации. CD141⁺ ДК представляют меньшую по численности субпопуляцию ДК крови, кожи и лимфоидных органов человека, специализируясь на восприятии сигналов от вирусных МПП и погибших клеток, и обладают выраженной способностью к перекрестной презентации. При стимуляции наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов эти ДК вызывают созревание Т-хелперов 1 типа. Наряду с этими основными субпопуляциями в отдельных тканях присутствуют подгруппы ДК, демонстрирующие специфический или смешанный фенотип. Так, в lamina propria кишечника человека присутствуют CD103⁺Sirpa⁺ ДК, близкие по транскриптому к CD1c⁺ ДК, но обладающие повышенной способностью стимулировать регуляторные Т-клетки. В дерме есть клетки со смешанным фенотипом ДК и макрофагов (CD209⁺CD1a⁻CD14⁺FXIIIa⁺CD163⁺), функция которых также связана с индукцией толерантности и гуморальным иммунным ответом. Наконец, эпидермис заселен особой группой ДК – клетками Лангерганса. Различия фенотипа классических ДК обусловлены не только субпопуляционной принадлежностью, но и степенью зрелости. На стадии незрелых ДК эти клетки активно собирают антигены. После распознавания МПП или медиаторов воспаления ДК созревают, увеличивая экспрессию молекул, необходимых для презентации антигенов и стимуляции Т-лимфоцитов, а затем мигрируют из нелимфоидных тканей по лимфатическим сосудам в дренирующие лимфатические узлы. Воспаление в ткани усиливает процесс миграции, и количество ДК в оттекающей лимфе многократно возрастает. Кровь также транспортирует классические ДК. В основном это незрелые ДК, по-видимому, мигрирующие из костного мозга в ткани. В то же время, некоторые авторы считают, что ДК крови представляют собой смесь незрелых ДК и зрелых клеток, вышедших в кровотока из тканей после сбора антигенов. В экспериментах на мышах показано, что ДК из крови могут поступать в костный мозг, селезенку, печень, легкие и кожу, но не в лимфатические узлы.

Данная работа посвящена исследованию степени зрелости и субпопуляционного состава классических ДК крови человека в норме и при хроническом остеомиелите – инфекционном процессе, локализованном в костной ткани и ведущем к гнойно-воспалительным и деструктивным изменениям кости, а также окружающих мягких тканей. Объектом исследования являлись циркулирующие в крови классические ДК и клетки двух основных субпопуляций классических ДК.

Для анализа субпопуляционного состава и фенотипа использовали пробы крови, обогащенные дендритными клетками с помощью магнитной сепарации с негативной селекцией. В работе использовали пробы венозной крови взрослых здоровых доноров и взрослых больных хроническим остеомиелитом с локализацией остеомиелитического очага в длинной трубчатой кости. Для получения обогащенных проб классических ДК из крови выделяли мононуклеарные клетки (МНПК) традиционным способом над слоем Nystopaque-1077 (Sigma, США) или Diacoll-1077 (Диа-М, Россия) и разделяли их магнитной сепарацией с негативной селекцией с использованием набора Human Myeloid DC Enrichment Kit в соответствии с инструкцией производителя (Stemcell Technologies, США). Фенотип ДК определяли с помощью проточной цитометрии, окрашивая клетки флуоресцентными конъюгатами моноклональных антител к молекулам: HLA-DR (Сорбент, Москва), CD1c, CD11c, CD83, CD86, CCR7 (eBiosciences, США) и CD141 (BioLegend, США). При анализе ДК последовательно гейтировали по профилю прямого и бокового светорассеяния (FSC/SSC) и по наличию HLA-DR. При анализе фенотипа субпопуляций ДК дополнительно разделяли по экспрессии субпопуляционных маркеров CD1c и CD141. Для оценки чистоты гейтирования ДК использовали иммунофлуоресцентную окраску клеток с помощью антител к линейным маркерам других популяций МНПК: CD14, CD3 (Сорбент, Москва), CD19 (Beckman Coulter, США), CD16, CD56 (BD Biosciences, США). Результаты проточной цитометрии обрабатывали с помощью программного обеспечения CellQuest. Результаты выражали, как долю клеток, несущих соответствующий маркер (%), а уровень экспрессии HLA-DR характеризовали геометрической средней интенсивности флуоресценции. Статистический анализ проводили с использованием t-теста Стьюдента для зависимых и независимых выборок.

При анализе результатов цитометрического исследования клетки отделяли от дегриса и выделяли в гейт R1; затем в гейт R2 выделяли клетки, у которых параметры FSC/SSC соответствовали ДК. После этого из гейта R2 выделяли классические ДК в гейт R3 по наличию на них молекулы HLA-DR. Проверка чистоты гейтирования классических ДК показала, что практически все клетки гейта R3 лишены экспрессии линейных маркеров других популяций МНПК: количество CD14⁺, CD3⁺ или CD19⁺ клеток в гейте R3 не превышало 1 %, и лишь количество клеток со слабой экспрессией CD16 и/или CD56 составляло 5,3 %. 90,1 ± 3,2 % клеток гейта R3 несло характерную для классических ДК молекулу CD11c. Таким образом, использованная стратегия позволяла выделить в гейт для анализа чистую популяцию классических ДК.

Выход чистых классических ДК (клеток гейта R3) из 1 мл крови здоровых и больных составлял $1,49 \pm 0,51$ и $1,34 \pm 0,50$ тыс. клеток соответственно. Общий выход клеток, количество получаемых классических ДК и доля ДК в пробах у здоровых и больных достоверно не различались. Классические ДК здоровых доноров имели фенотип незрелых ДК: они не экспрессировали характерный для зрелых ДК хемокиновый рецептор CCR7, и лишь 5,6 % клеток имели крайне слабую экспрессию CD83. Костимулирующую молекулу CD86 несли 55,3 % клеток, но уровень ее экспрессии был также низок. ДК крови больных остеомиелитом обладали достоверно меньшей экспрессией молекул, ассоциированных с созреванием. Практически все ДК больных были лишены маркеров зрелых ДК CD83 и CCR7, а молекулу CD86 слабо экспрессировали лишь 11,7 % ДК. Плотность экспрессии HLA-DR на мембране ДК, оцениваемая по геометрической средней интенсивности флуоресценции, у больных была несколько ниже, чем у здоровых, но достоверно не различалась.

Оценка содержания основных субпопуляций классических ДК крови не выявила существенных различий между больными и здоровыми. Содержание клеток CD1c⁺ субпопуляции в обеих группах обследованных составляло около 90 % от всех классических ДК, тогда как на CD141⁺ субпопуляцию приходилось менее 10 % ДК. Оценка фенотипа клеток у здоровых доноров выявила существенные различия экспрессии молекулы CD86 между субпопуляциями. Клетки CD141⁺ субпопуляции здоровых доноров обладали значительно меньшей экспрессией CD86 по сравнению с клетками CD1c⁺ субпопуляции. Кроме того, клетки этой субпопуляции как у здоровых, так и у больных обладали меньшей плотностью экспрессии HLA-DR на мембране. Хемокиновый рецептор CCR7 отсутствовал на клетках обеих субпопуляций, а слабая экспрессия CD83 достоверно не различалась. Количество клеток, несущих CD86, в CD1c⁺ субпопуляции у больных было существенно меньше, чем у здоровых. Кроме того, у больных практически не обнаруживалось CD1c⁺ клеток, несущих CD83. Низкий уровень экспрессии CD86 на CD141⁺ ДК у здоровых доноров уменьшал различия экспрессии этой молекулы между больными и здоровыми и делал их ста-

тистически недостоверными, хотя тенденция к снижению экспрессии CD86 у больных в данной субпопуляции сохранялась. CD141⁺ ДК крови больных, также как и клетки CD1c⁺ субпопуляции, были практически лишены экспрессии молекул CD83 и CCR7.

Таким образом, показано, что циркулирующие в крови классические ДК в норме обладают фенотипом незрелых ДК, причем наименее зрелый фенотип демонстрируют клетки CD141⁺ субпопуляции, поскольку они обладают существенно меньшим уровнем экспрессии костимулирующей молекулы CD86 и молекулы главного комплекса гистосовместимости HLA-DR. Клетки обеих субпопуляций обладают крайне слабой экспрессией маркера зрелых ДК – молекулы CD83 и практически лишены хемокинового рецептора CCR7, направляющего миграцию нагруженных антигенами зрелых ДК из тканей в Т-клеточные зоны лимфоидных органов. Соотношение основных субпопуляций классических ДК крови при остеомиелите не изменяется, однако степень зрелости всех классических ДК и клеток, представляющих наиболее многочисленную, CD1c⁺ субпопуляцию, значительно снижается. Таким образом, воспалительный процесс при остеомиелите вызывает обогащение пула ДК крови наименее зрелыми клетками. При этом в крови не обнаруживается клеток со зрелым фенотипом, которые могут нести антигены из воспаленной ткани в лимфоидные органы. В соответствии с этим можно предположить, что ДК крови являются недавними мигрантами из костного мозга, направляющимися для заселения периферических тканей. Также можно предположить, что инфекция и воспаление при остеомиелите вызывает ускоренное созревание и эмиграцию ДК из зоны воспаления (в частности, из надкостницы и окружающих мягких тканей) с током лимфы в региональные лимфатические узлы, где они гибнут после презентации антигенов. Кроме того, ДК могут погибать непосредственно в очаге некротического поражения. При этом циркулирующие в крови ДК мигрируют в воспаленную ткань для восстановления пула антигенпрезентирующих клеток, а их место в крови занимают юные формы незрелых ДК, вышедшие из костного мозга.

АНАЛИЗ ГЕНОМА ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* M-17

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора,
Нижний Новгород

Согласно требованиям современных нормативных документов производственные пробиотические штаммы должны быть изучены по множеству признаков, в том числе должны быть подтверждены их апатогенность и авирулентность. Существующие в настоящее время наукоемкие технологии позволяют провести анализ полного генома штаммов микроорганизмов и подтвердить отсутствие патогенности и вирулентности на генетическом уровне.

Цель работы: анализ генома штамма *Escherichia coli* M-17, используемого для производства пробиотика «Колибактерин сухой». Объект исследования – лиофильно высушенный штамм *E. coli* M-17 из коллекции маточных культур ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Нижний Новгород «Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов «ИмБио».

Геномную ДНК выделяли с использованием коммерческого набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия), подготовку библиотек производили с помощью набора TrueSeq (Illumina Inc, США), секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina). Аннотация генома производилась с помощью утилиты Prokka v. 1.11 и геномного сервера RAST (<http://rast.nmpdr.org>). Для подробного изучения генома использовали специализированные программные продукты, доступные на сайте Центра геномной эпидемиологии (www.cge.cbs.dk). Изучение CRISPR-региона проводили с использованием программы CrisprFinder (<http://crispr.u-psud.fr>), поиск детерминант антибиотикорезистентности и патогенности с использованием ResFinder 2.1 (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>) и PathogenFinder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/PathogenFinder/>). Для поиска детерминант вирулентности применяли программу VirulenceFinder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>), для обнаружения интегрированных плазмид – PlasmidFinder 1.3. (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>). MLST типирование проводили с использованием сервиса MLST-1.8 Server, для установления серотипа использовали программу SerotypeFinder 1.1 (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>).

В результате работы установлены основные характеристики генома микроорганизма – размер генома составил 4 483 110 п.н., содержание GC – 50,7 %, общее количество генов – 5 107, количество псевдогенов – 80, количество CDS – 4 930. Значи-

тельное количество псевдогенов характерно для микроорганизмов микробиоты кишечника человека, о «кишечном» происхождении штамма свидетельствует и наличие системы устойчивости к солям желчи – мембранного протеина DamX (KLD50520.1).

С использованием программы CrisprFinder был исследован CRISPR-регион изучаемого штамма, установлены уникальные последовательности спейсеров и повторов данного региона, которые можно рассматривать как «метку штамма» и впоследствии использовать для его индикации.

С использованием сервера RAST и алгоритма KEGG изучены пути метаболизма штамма, установлено, что в геноме детерминировано несколько путей центрального метаболизма углеводов: гликолиз, путь Энтнера-Дудорова и пентозофосфатный путь.

С использованием RAST и программы ResFinder полногеномная последовательность штамма была проанализирована на наличие генов антибиотикорезистентности. Обнаружен кластер транспортных генов (mdtABCD), наличие которого обуславливает устойчивость к новобиоцину и доксихолату, оперон, регулирующий экспрессию генов, отвечающих за систему эффлюкса лекарственных, в том числе и антибактериальных препаратов (MAR локус), а также ряд молекулярных эффлюксных помп – MATE, MFS, SmeA и др. Все обнаруженные детерминанты имеют хромосомную локализацию и не представляют угрозы в плане трансмиссивного распространения.

В процессе анализа с использованием программ PlasmidFinder-1.3, VirulenceFinder-1.5 и PathogenFinder установлено, что геном *E. coli* M-17 не содержит интегрированных плазмид, детерминант вирулентности и патогенности.

На современном этапе существует ряд методов, позволяющих типировать штаммы с использованием их полногеномных последовательностей. Наиболее распространенным является метод мультилокусного сиквенс типирования (MLST). Метод основан на определении нуклеотидной последовательности консервативных генов, экспрессия которых влияет на протекание реакций основного метаболизма. Эти, так называемые, гены домашнего хозяйства (housekeeping genes) присутствуют у всех организмов и характеризуются относительно низкой скоростью накопления мутаций.

Для проведения MLST штамма использовали программу MLST-1.8. В данной схеме анализируют-

ся фрагменты семи «генов домашнего хозяйства» – аденилаткиназы (*adk*), фумарат гидратазы (*fumC*), ДНК гиразы (*gyrB*), изоцитрат дегидрогеназы (*icd*), малат дегидрогеназы (*mdh*), аденилосукцинат дегидрогеназы (*purA*) и рекомбиназы А (*recA*). Обнаружено, что исследуемый штамм *E. coli* М-17 принадлежит к 141 сиквенс-типу (ST-141). Согласно данным научной литературы этот ST характерен для непатогенных эшерихий человеческого происхождения.

С использованием программного продукта SerotypeFinder-1.1. были проанализированы детерминанты антигенов микроорганизма – белки О-антигена и флагеллина *flhC* и установлена принадлежность штамма к серотипу O2:H6.

В результате проведенной работы установлено, что геном штамма *E. coli* М-17 не содержит трансмиссивных генов антибиотикорезистентности, генов патогенности, вирулентности и интегрированных плазмид. Впервые с использованием метода мультилокусного сиквенс-типирования был установлен сиквенс-тип штамма – ST141. Определен серотип штамма – O2:H6, который соответствует серотипу *E. coli* М-17 согласно Регламенту производства колибактеина сухого (1980). Полногеномная последовательность генома штамма *E. coli* М-17 (ФГУП «НПО «Микроген») депонирована в международной базе данных GenBank под соответствующим номером проекта – LBDD0000000.1.

ТЮРИНА А.В., ГАЕВСКАЯ Н.Е., ПОГОЖОВА М.П.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СМЕСИ ХОЛЕРНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ХОЛЕРЫ

ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

В современной клинической практике седьмой пандемии холеры прослеживается тенденция к изменению спектра возбудителя. Тревожные сообщения о выделении и сохранении в различных регионах мира штаммов *Vibrio cholerae*, устойчивых к ряду антибактериальных препаратов (Егизарян Л.А., 2015), вызывают необходимость поиска альтернативных антибиотикам средств, эффективных в ее отношении.

В связи с этим, актуальны исследования бактериофагов, преимущество которых является способность поражать как чувствительные, так и полиантибиотикорезистентные штаммы возбудителей инфекций (Бондаренко В.М., 2013).

Спектры активности фагов очень узки и ограничены одним или несколькими близкородственными видами бактерий (Тикунова Н.В., 2012). Благодаря специфичности фагов, они используются для диагностики инфекционных заболеваний, определения видовой принадлежности возбудителя, внутривидовой дифференциации бактерий, индикации бактерий из объектов внешней среды. Основным условием их успешного применения является проверка выделенной культуры на чувствительность к соответствующему фагу. Но при необходимости профилактического лечения необходимо иметь препарат, поражающий сразу несколько видов бактерий, возможных возбудителей инфекции.

Целью нашей работы было отобрать и изучить *in vitro* из коллекции лаборатории бактериофагов подходящие холерные фаги для профилактики холеры, и проверить их эффективность *in vivo*.

В работу были отобраны холерные фаги из коллекции лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, лизирующие вибрионы O1 серогруппы биоваров *Classical* и *El Tor*.

Изучение свойств бактериофагов проводили общепринятыми методами. Питательные среды включали бульон Мартена, 0,7% и 1,5%-ный агар Мартена (рН = 7,7).

Для профилактики фаговую смесь вводили перорально в объеме 0,5 мл в концентрации $n \times 10^{-9}$ – $n \times 10^{-10}$ БОЕ/мл, один раз в сутки в течение 3 суток перед заражением.

В опытах *in vivo* использовали штамм *V. cholerae El Tor* 19243 (*ctx+*, *tcp+*), выделенный от больного в 2012 г. (г. Москва), из коллекции лаборатории МЖК с ЦПВ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Белым мышам массой 18–20 г вводили внутрибрюшинно взвесь 18-часовой агаровой культуры (37 °С) холерного вибриона в 0,3%-ном агаризованном 0,9%-ном растворе хлорида натрия в дозе 108 м.к. в 0,2 мл. Наблюдение за животными осуществляли в течение 10 дней. Опыт учитывали при 100%-ной гибели контрольных животных.

При работе с животными руководствовались законодательством Российской Федерации и Директивой европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

Нами была проведена *in vitro* оценка бактериофагов холерных вибрионов из коллекции лабора-

тории бактериофагов с целью подбора наиболее эффективных штаммов фагов. При отборе фагов учитывались следующие показатели: специфичность литического действия в отношении вибрионов, максимально высокая репродуктивная активность, степень лизиса гомологичных бактерий, продолжительность культивирования, скорость размножения, посевные дозы бактерий и фагов.

Перспективными для проведения фагопрофилактики экспериментальной холеры оказались 2 холерных фага. Они, в сравнении с остальными, обладали высокой литической активностью и являлись вирулентными. Спектр литической активности одного из них имеет широкий диапазон, лизируя холерные вибрионы биоваров *Classical* и *El Tor*. Диапазон литической активности другого фага распространяется только на холерные вибрионы биовара *El Tor*, но в высоком проценте (70 %). По данным электронно-микроскопического исследования эти холерные бактериофаги относились к III морфогруппе (Тихоненко А.С., 1968) и типу семейства Podoviridae (Ackerman H.B., 1987), но к разным серологическим типам холерных фагов: – к 7 и ко 2.

Специфичность фагов в отношении хозяина подтверждена на большом наборе представителей близкородственных микроорганизмов семейств *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*.

Результаты показали, что профилактическое применение бактериофагов перед заражением защищало от развития инфекционного процесса. Выживаемость животных составила 70 ± 21 %.

Применение бактериофагов направлено на снижение колонизации патогенных микроорганизмов, отвечает современной концепции профилактического направления в медицине и может быть использовано в лечебных методиках в условиях клиники.

Таким образом, эксперимент показал высокую эффективность профилактического использования данной фаговой смеси в отношении антибиотикорезистентного штамма *V. cholerae El Tor* 19243 на модели инфекции у белых мышей (более 70 % выживших животных). Также, спектр литической активности фаговой смеси может быть расширен добавлением к ней моновидовых смесей других видов (после доказательства их литической природы).

УЛЬШИНА Д.В., КОВАЛЕВ Д.А., ПОНОМАРЕНКО Д.Г., РУСАНОВА Д.В.

MALDI-TOF MS ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ БЕЛКОВЫХ ПРОФИЛЕЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ БРУЦЕЛЛЕЗОМ ЛЮДЕЙ

ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Ставрополь

Наибольшее распространение бруцеллез получил в странах Средиземноморья, Южной и Центральной Америки, Африки, Азии, Южного Кавказа, Аравийского полуострова, Индии, Ближнего Востока. В Российской Федерации последние 20 лет ежегодно регистрируется от 340 до 600 случаев впервые выявленного бруцеллеза среди людей. Основная часть больных бруцеллезом (более 80 %) регистрируется в административных субъектах с развитым животноводством (Северо-Кавказский, Южный и Сибирский федеральные округа).

В результате литературного обзора можно сделать вывод о необходимости совершенствования лабораторной диагностики бруцеллеза посредством внедрения новых диагностических технологий, обеспечивающих высокую производительность, необходимую чувствительность, специфичность и экономическую доступность. Следует отметить широкий спектр коммерческих баз данных (БД) и биоинформационных платформ для идентификации и дифференциации патогенных бактерий, в том числе возбудителя бруцеллеза на

основе MALDI-ToF MS: MALDI Biotyper, ClinProTools с набором MALDI Sepsityper Kit («Bruker Daltonics», Германия). Дальнейшее изучение возможности применения MALDI-ToF MS для выявления возбудителя бруцеллеза в клинических образцах представляется актуальным, так как существующие подходы относительно дорогостоящи и включают этап выделения чистой культуры на стадии пробоподготовки.

Цель исследования – выявление особенностей белковых профилей крови больных бруцеллезом людей при использовании MALDI-ToF MS.

Объектом исследования выступали пробы крови 19 больных с клиническим диагнозом «острый бруцеллез». Образцы крови 30 условно здоровых человек, отобранные в емкости для забора венозной крови Vacutainer («Becton Dickinson International», США) (15 мужчин и 15 женщин в возрасте от 20 до 60 лет) использовали в качестве отрицательного контроля.

Работа с исследуемым материалом, подозрительным на зараженность микроорганизмами I–

II групп патогенности, проводилась в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».

Инактивирование проб крови больных бруцеллезом осуществляли раствором 70%-ного этилового спирта по описанной ранее методике (Ferreira L., 2010).

Масс-спектры получали в линейном режиме на MALDI-ToF масс-спектрометре Microflex («Bruker Daltonics», Германия) с использованием точных значений масс бактериального тест-стандарта MBT («Bruker Daltonics», Германия) в качестве внутренней калибровки.

В ходе настоящего исследования был проведен MALDI-ToF MS анализ проб крови 30 условно здоровых человек и 19 больных бруцеллезом. Каждый образец исследовали в трех повторах. Выявление особенностей белковых профилей крови больных бруцеллезом проводили путем сравнительного анализа с масс-спектрометрическими характеристиками образцов крови условно здоровых людей и с полученными ранее референсными масс-спектрами бруцелл из БД в среде программы Biotyper на базе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (Ульшина Д.В., 2015).

Формирование суммарного пик-листа (супер-спектра) производили на основе масс-спектрометрических данных белковых экстрактов образцов крови условно здоровых людей.

Общее количество зарегистрированных пиков на масс-спектрах экстрактов крови больных бруцеллезом существенно варьировало – 117 ± 15 – в рассматриваемом интервале значений масс 2–20 kDa.

Сравнительный анализ полученных данных позволил выявить на масс-спектрах экстрактов крови больных бруцеллезом совокупность из 27 общих, отсутствующих на масс-спектрах отрицательного контроля, отличающихся по абсолютной интенсивности аналитически значимых сигналов ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2014, 2085, **2422**, **3268**, **3336**, **3696**, 4025, 4124, 4156, 4252, 4516, 4914, **5360**, 5499, 5558, 5940, **6672**, 6860, **7048**, 7147, 7566, 7885, 8311, 9824, 10039, 15132, 15873. При этом указанная группа фрагментов содержала 7 сигналов (отмечены курсивом), ранее описанных нами как потенциально родоспецифичные для бруцелл на основании анализа белковых профилей 96 культур 6 основных видов рода *Brucella*. Другие 20 из отмеченных общих сигналов нехарактерны для профилей условно здоровых людей и масс-спектров культур микроорганизмов *Brucella spp.* Предположительно, эти фрагменты неспецифичны и могут быть ассоциированы с протеканием воспалительного, иммуно-воспалительного процессов в организме у больного бруцеллезом.

Было отмечено существенное изменение количественных характеристик для каждого из 27 указанных сигналов на масс-спектрах всех исследованных образцов. Максимальная интенсивность была зарегистрирована для сигналов ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 7566 ($24730 \pm 20247 \text{ a.i.}$) и 15132 ($9432 \pm 5380 \text{ a.i.}$). Интенсивность остальных фрагментов изменялась в относительно узком диапазоне ($2500 \pm 2000 \text{ a.i.}$). Наибольшие значения отношения сигнал/шум были отмечены для следующих сигналов ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): **3268** (23 ± 19), 4516 (19 ± 10) и 7566 (12 ± 5). Интенсивность специфичных для бруцелл фрагментов изменялась в следующем диапазоне ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): **2422** (от 278 до 3668 a.i.), **3268** (от 1101 до 8272 a.i.), **3336** (от 597 до 13140 a.i.), **3696** (от 333 до 3895 a.i.), **5360** (от 322 до 3192 a.i.), **6672** (от 275 до 2517 a.i.), **7048** (от 251 до 1993 a.i.). Разрешение пиков (R) для общих сигналов на масс-спектрах экстрактов крови больных бруцеллезом находилось в диапазоне 451 ± 50 . Характеристики указанных сигналов, по нашему мнению, могут коррелировать с концентрацией возбудителя в крови больного бруцеллезом. Однако, при высокой вариабельности параметров основных сигналов, во всех клинических образцах больных с установленным диагнозом «острый бруцеллез» были выявлены фрагменты, родоспецифичные для микроорганизмов рода *Brucella* (получен положительный результат).

При использовании ПЦР, культурального метода и MALDI-ToF MS для анализа проб крови больных бруцеллезом людей были получены дискордантные результаты. Применение культурального метода позволило выделить чистые культуры бруцелл в 23 % от общего количества образцов, ПЦР – 69,2 % (по данным Референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский противочумный институт). Следует отметить, что ни для одного из исследованных образцов не был получен положительный результат при использовании всех трех методов.

Таким образом, подтверждена возможность выявления специфичных маркеров возбудителя бруцеллеза в клиническом материале методом MALDI-ToF MS без этапа выделения чистой культуры или накопления возбудителя в образце на стадии пробоподготовки. В результате сравнительного анализа белковых профилей образцов больных бруцеллезом людей было охарактеризовано 27 общих сигналов, в том числе 7 родоспецифичных для бруцелл ($m/z (\pm 5 \text{ Da})$): 2422, 3268, 3336, 3696, 5360, 6672, 7048, позволяющих проводить точную дифференциацию их от масс-спектров условно здоровых людей. Продолжение исследования эффективности использования предложенного подхода для выявления возбудителя бруцеллеза в образцах крови больных бруцеллезом людей представляется актуальным.

УСТИНОВ Д.В.¹, АНТОНОВ А.С.¹, ВУИ Т.Л.А.², ТЕТЕРЯТНИКОВА Н.Н.¹, NGO Т.Н.²,
ШПАК И.М.¹, ЗАХАРОВА И.Б.¹

ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ШТАММА *BURKHOLDERIA THAILANDENSIS*, ВЫДЕЛЕННОГО НА ТЕРРИТОРИИ ВЬЕТНАМА В 2016 ГОДУ

¹ ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

² Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр,
Ханой

Burkholderia thailandensis является грамотрицательным микроорганизмом, широко распространенным в объектах внешней среды территорий Юго-Восточной Азии и Северной Австралии. По культурально-морфологическим и биохимическим свойствам, за исключением ассимиляции арабинозы, *B. thailandensis* неотличим от возбудителя мелиоидоза и, до его выделения в отдельный вид, считался арабинозо-положительным вариантом *B. pseudomallei*. Данный микроорганизм в высоких дозах патогенен для грызунов, вызывая заболевание, подобное мелиоидозу. Кроме того, *B. thailandensis* поражает насекомых, нематод, растения и миксомицетов, являясь более вирулентным по отношению к этим организмам, чем *B. pseudomallei*. До недавнего времени считалось, что *B. thailandensis* авирулентен для людей, однако на сегодняшний день описаны отдельные случаи инфекции различной степени тяжести, включая сепсис, в Таиланде, Китае, Малайзии и США. В 2017 г. коллекционный фонд Волгоградского научно-исследовательского противочумного института был пополнен штаммом *B. thailandensis* 2.1, выделенным в 2016 г. из почвы на территории вьетнамской провинции Нгеан (север центрального побережья). Установлено, что данный штамм обладает более высокой вирулентностью для золотистых хомячков, чем референтный штамм вида *B. thailandensis* E264.

Целью данной работы являлся анализ данных высокопроизводительного секвенирования генома *B. thailandensis* 2.1 и выявление его генетических особенностей.

Работа с культурой возбудителя велась в соответствии с санитарными правилами СП 1.3.2518-09. Получение геномной ДНК и ее очистка была проведена с использованием набора Gene Jet Genomic DNA Purification Kit. Библиотека фрагментов геномной ДНК была получена при помощи набора IonXpress™ Plus Fragment Library Kit. Отбор фракций фрагментов геномной ДНК длиной 300–400 пар оснований осуществляли методом горизонтального гель-электрофореза в

агарозном геле, используя комплект оборудования E-Gel™ Size Select™. Последовательности генома *B. thailandensis* 2.1 были получены при помощи секвенатора Ion PGM System. Сборка прочтений была проведена с использованием программы SPAdes 3.10.1. Для аннотирования использовался веб-сервис RUST.

Результаты и обсуждение. В результате *de novo* сборки генома *B. thailandensis* 2.1 нами было получено 223 контига, длина 146 превышала 500 п.н., при этом усредненное значение кратности покрытия превысило 85. Размер самого протяженного контига был свыше 430 т.п.н. Суммарная длина всех контигов составила более 6 м.п.н., значение N50 – 112 т.п.н. Примечательно, что при сравнении полученных последовательностей генома *B. thailandensis* 2.1 с последовательностями, представленными в базе данных nr GenBank NCBI, было выявлено, что наибольшим процентом гомологии с ними обладал геном штамма *B. thailandensis* 200272112, выделенного на территории США. Однако, при помощи инструментов, интегрированных в *Burkholderia pseudomallei* MLST databases, нами было установлено, что исследуемый изолят принадлежит к сиквенс-типу 696 по D. Godoy. К этому сиквенс-типу относится штамм, выделенный в Камбодже, в то время как штамм из США принадлежит к 101 сиквенс-типу. В результате автоматического аннотирования в наборе контигов *B. thailandensis* 2.1 было идентифицировано 7 тысяч белковых продуктов, в том числе, относящихся к факторам патогенности и отвечающих за адгезию, резистентность к тетрациклину, ванкомицину, аминогликозидам, фторхинолонам и бета-лактамам антибиотикам, а также лизоциму. Кроме того, были выявлены острова патогенности, ответственные за внутриклеточный паразитизм.

Таким образом, в ходе работы получена первичная молекулярно-генетическая характеристика изолята *B. thailandensis* 2.1. В дальнейшем запланирован поиск особенностей генома данного штамма, влияющих на уровень вирулентности.

ВЛИЯНИЕ СМЕННОЙ РАБОТЫ НА РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова»,
Москва

Сменная работа является в настоящее время весьма распространенным способом организации трудовой деятельности, без которой не могут обойтись современные промышленные производства. Проблемы здоровья, возникающие у лиц, занятых на соответствующих работах, привлекают к себе внимание врачей разного профиля деятельности, включая клиницистов, специалистов по медицине труда, гигиенистов и др. Знание состояния репродуктивного здоровья работников ночных смен, заслуживает отдельного внимания, так как тесно связано с демографическими проблемами в стране (рождаемость) и здоровьем новорожденных. Оценка риска развития патологии репродукции человека, онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний и т.д. позволит разрабатывать целенаправленные профилактические мероприятия по предупреждению нарушений здоровья сменных работников.

Цель работы – обратить внимание специалистов, занимающихся изучением состояния репродуктивного здоровья женщин, работающих в сменном графике.

Методы оценки воздействия сменной работы на организм, в целом, имеют свою особенность, так как должны учитывать время занятия сменной работой, факторы профессионального и социального характера, индивидуальные особенности работника, которые действуют комплексно, вызывая нарушения биологических и социально-психологических функций. Работы в ночное время могут оказывать отрицательное воздействие на здоровье работника через биологические функции, вызывая психосоциальные проблемы в виде стресса.

В основе методического подхода в изучении влияния сменной работы на здоровье человека лежат методы гигиенического (оценка организации рабочего времени, в которую включены методы контролируемой освещенности, изменения графика смены и т.д.), лабораторного (тесты на биомаркеры, определение уровней гормонов и т.д.), эпидемиологического исследований.

Тесты на биомаркеры суточного регулирования и дисрегуляции позволяют определить вещества, способные обнаружить в организме человека аномальные гены или белки, свидетельствующие о зачаточных стадиях развития патологии.

Для определения потенциальной опасности сменной и ночной работы для репродуктивного здоровья человека используются некоторые методы изменения циркадных (циркодианных) ритма

(Wedderburn, 1994), регулятором которых является эпифиз, связанный со зрительной системой. Секретция почти всех гормонов в организме подчиняется циркадной синхронизации (Pandi-Perumal и др., 2007). Из этого следует, что факторы, которые способны нарушать циркадный ритм, могут изменять уровни гормонов в организме, что может вызывать нарушения здоровья человека.

Основным гормоном эпифиза является мелатонин (производный серотонина), отвечающий за физиологические ритмы, обеспечивающие адаптацию организма к условиям внешней среды. В дневное время в эпифизе вырабатывается серотонин, в ночное – мелатонин, основной функцией которого является регуляция суточного ритма организма человека. Измерение мелатонина производится в сыворотке крови или плазме, в слюне, в моче и путем сравнения уровней гормона в крови и моче.

Целый ряд исследований и систематических исследований зарубежных и российских авторов показывают, что сменная работа способна вызывать у работников разной профессиональной направленности нарушения функции сердечно-сосудистой системы (Горблянский с соавт., 2002; Boggild et al., 1999; Karlsson B. et al., 2005 и др.). При долгосрочной сменной работе с меняющимся графиком, возникает риск новообразований различной локализации, метаболические нарушения.

Электрическое освещение в ночное время (его часто называют световым загрязнением) приводит к серьезным расстройствам поведения и состояния здоровья. Согласно гипотезе «циркадианной деструкции», такое изменение светового режима нарушает эндогенный суточный ритм, подавляет ночную секрецию мелатонина и снижает его концентрации в крови (Stevens R.G., 2006). Комплекс нарушений гормонального, метаболического и клинического характера, которые развиваются при сменной и ночной работе, могут быть факторами, вызывающими патологию репродуктивной системы работников.

Известно, что недостаточное содержание мелатонина приводит к повышенной выработке ФСГ (фолликулостимулирующий гормон) и, соответственно, вызывает общую гиперэстрогению, что способствует развитию поликистоза яичников с клиникой бесплодия. На фоне высоких концентраций ФСГ появляется риск развития миомы матки, мастопатии, самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, рождение маловесных детей, ожирения, гипертонической болезни, дис-

функциональных маточных кровотечений, быстрого старения (накапливаются свободные радикалы), у женщин увеличивается степень риска наступления ранней менопаузы, увеличивается риск развития рака груди (Кухтина Е.Г. и др., 2015; Knutsson A., 2003).

Гиперфункция же эпифиза, наоборот, индуцирует гипоэстрогению, и как итог, половую фригидность. Нарушение продукции мелатонина, как количественно, так и ее ритма, является пусковым моментом, приводящим на начальных этапах к десинхронозу, за которым следует возникновение органической патологии половой функции.

Количество вырабатываемого в эпифизе гормона зависит от времени суток: ночью вырабатывается около 70 % всего мелатонина в организме. Его концентрация в организме зависит также от освещенности: при избыточном (дневном) освещении синтез гормона снижается, при снижении освещенности – повышается. Активность выработки гормона начинается около 8 часов вечера, пик его концентрации приходится на период после полуночи и до 4 часов. Благодаря этому гормону мы можем засыпать и спать крепким сном.

Поддерживая гормональный гомеостаз в организме, мелатонин участвует в регуляции созревания и развития половых желез (яичников и яичек), регулирует менструальный цикл (МЦ), старение и др. функции репродуктивной системы.

Установлено, что эпифизарная недостаточность в детском возрасте приводит к быстрому росту скелета с преждевременным развитием половых желез и развитием вторичных половых признаков. В детском возрасте активность шишковидной железы максимальна, что тормозит рост и развитие половой системы. В подростковом периоде активность эпифиза значительно уменьшается.

Нормальный менструальный цикл взрослой женщины представляет собой относительно точный показатель благополучия половой системы организма. Характерные для нормального менструального цикла изменения в яичниках происходят, главным образом, под влиянием гипофизарных гонадотропинов; в последнее время доказано не меньшее значение для нормального хода циклических процессов в яичниках роли эпифиза.

Нарушение суточного ритма смены светового режима приводит к десинхронизации выработки мелатонина. Результаты экспериментальных данных, полученных на животных аналогичны клиническим нарушениям у женщин.

В эксперименте выявлены отсутствие желтых тел, фолликулярные кисты и гиперплазия ткани не только в яичнике, но и в матке, и в молочных железах. Дополнительное освещение в ночное время укорачивает продолжительность менструального цикла у женщин, которое сопровождается развитием гинекологической патологией (Анисимов В.Н., 2007).

Нарушения секреторной активности шишковидной железы могут являться причиной патоло-

гии течения беременности и нарушений развития и адаптации плода и новорожденного. Некоторые исследования указывают на то, что мелатонин затрагивает секрецию гормонов во время беременности и выживание плодов. Известно, что материнский мелатонин проникает через плаценту, уровни его носят волнообразный характер в зависимости от срока беременности (Pang S.F., 1985).

Имеются сведения, что мелатонин принимает участие в регуляции времени наступления родов у женщин. Замечено, что роды чаще наступают в ночные или утренние часы при максимальных уровнях секреции шишковидной железой мелатонина (Kilvela A., 1991). Длительность родов также зависит от уровня мелатонина в сыворотке крови.

Установлено, что риск развития рака молочной железы, наиболее распространенного рака во всем мире, связан с учащением ночной бессонницы, увеличением уровня ночного освещения, при работе в ночное время и с увеличением стажа работы (Анисимов В.Н. и соавт., 1993). В 2007 г. группа экспертов международного агентства исследований рака пришла к заключению, что работа в ночную смену причастна к развитию рака молочной железы (РМЖ).

Исследования J. Sharkey с соавт. (2009) показали, что человеческий эндометрий является органом-мишенью для мелатонина.

Световое воздействие вызывает нарушение циркадных ритмов, что снижает уровни экскреции мелатонина эпифизом и это ведет к развитию рака эндометрия.

На фоне роста общей заболеваемости в последние годы среди мужского населения отмечается рост рака простаты. Исследование G. Costa с соавт. (2010), выполненное на пилотах, работа которых является сменной, связана с ночными режимами, сменой часовых поясов и т.д., выявило значимую тенденцию риска рака простаты с увеличением числа дальних рейсов.

Данные литературы говорят о важной роли эпифиза в развитии рака. Угнетение его функции при постоянном освещении стимулирует канцерогенез. Антиоксидантный эффект мелатонина, открытый Р. Рейтером в 1993 г., подтвержден во многих исследованиях. Основная направленность действия гормона – защита ядерной ДНК, протеинов и липидов. На клеточном уровне мелатонин может защищать клетки от повреждений канцерогенными агентами. Его антиоксидантная активность связана со способностью нейтрализовать свободные радикалы.

Приведенные данные показывают, что мелатонин обладает уникальными адаптивными, регулирующими возможностями организма. Вместе с тем, нарушение его продукции в любом возрасте может привести к серьезным расстройствам функционирования репродуктивной системы, и, особенно это выражено при посменной работе, в т.ч. в ночную смену.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА НОКДАУНА ГЕНА DR3 В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

¹ ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

² ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, Нижний Новгород

Нарушение регуляции программируемой клеточной гибели (ПГК) играет важную роль в патогенезе многих заболеваний человека, в том числе и вирусных инфекций. Идентификация механизмов, с помощью которых патогенные агенты воздействуют на ПГК, обеспечит разработку новых подходов к диагностике и терапии заболеваний. При изучении инфекционного процесса *in vitro* ключевым аспектом является выбор подходящей модели, что необходимо для адекватной экстраполяции полученных данных на процессы, протекающие в живом организме.

Доказано, что большинство ДНК-содержащих и некоторые из РНК-содержащих вирусов кодируют микро-РНК (миРНК). Они, миРНК, играют важную роль в посттранскрипционном сайленсинге генов, инициируя процесс деградации комплементарной мРНК-мишени. Мишенями вирусных миРНК являются как собственные вирусные мРНК, так и мРНК клеточных генов, участвующих в регуляции ПГК и модуляции иммунного ответа организма, например, гены белкового семейства «рецепторов смерти». Одним из представителей этого семейства является рецептор DR3, который участвует в инициации ПГК Т-лимфоцитов при некоторых вирусных инфекциях.

На сегодняшний день не описаны вирусные белки, участвующие в процессинге миРНК вирусов. Для этих целей используется только белковый аппарат инфицированной клетки. Данный факт даже в условиях отсутствия вирусного патогена дает исследователям широкие возможности *in vitro* моделирования целого ряда механизмов инфекционного процесса путем трансфекции клеток-мишеней химически синтезированными миРНК. Наиболее перспективным является применение миРНК в моделях с использованием первичных культур клеток, поскольку они зачастую обладают низким уровнем репродукции вируса.

Вместе с тем, широкое применение *in vitro* моделей с использованием миРНК ограничено относительно низкой трансфецируемостью первичных культур клеток млекопитающих и человека. В настоящее время одним из наиболее эффективных является метод трансфекции миРНК с применением катионных липидных носителей, обладающих высоким КПД и низкой цитотоксичностью. Од-

нако существующие протоколы трансфекции не оптимизированы для работы с суспензионными первичными культурами, такими как культуры иммунокомпетентных клеток.

Целью работы явилась разработка способа временного подавления (нокдаун) экспрессии гена «рецептора смерти» DR3 в первичной культуре мононуклеарных клеток периферической крови человека.

В качестве материала для исследования использовали образцы периферической крови практически здоровых доноров. Первичную культуру мононуклеарных клеток периферической крови (МНПК) выделяли с применением раствора фикола ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$). Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением 2 % эмбриональной телячьей сыворотки. Трансфекцию МНПК осуществляли с применением коммерческого реагента липофектамин («Lipofectamine RNAiMAX Transfection Reagent», «Invitrogen», США).

Для подбора оптимальных условий трансфекции и оценки ее эффективности использовали неспецифическую миРНК длиной 19 н.о., меченую флуоресцентным красителем Су-3 (производство «ДНК-синтез», Россия). Учет количества успешно трансфецированных клеток проводили методом проточной цитофлуориметрии. Эффективность трансфекции тестировали в трех вариантах: 1 пМ миРНК и 0,3 мкл липофектамина на 40 тыс. клеток (рекомендации производителя), 10 пМ миРНК и 0,3 мкл липофектамина на 40 тыс. клеток, 20 пМ миРНК и 0,6 мкл липофектамина на 40 тыс. клеток. В качестве контроля использовали клетки с добавлением питательной среды.

Нокдаун гена DR3 проводили с использованием коктейля из четырех миРНК длиной 19 н.о., комплементарных кодирующим областям целевой мРНК. Эффективность нокдауна подтверждали с помощью метода ОТ-ПЦР в реальном времени (тест-система для оценки относительного уровня экспрессии мРНК DR3 была разработана нами ранее), а также с помощью иммуноблоттинга. В качестве неспецифического контроля использовали неспецифическую миРНК, описанную выше. Статистическую обработку проводили с применением критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали ста-

статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Проведена оценка эффективности трансфекции МНПК с помощью реагента липофектамин. Показано, что количество успешно трансфецированных клеток возрастало в течение первых суток культивирования. Через 24 часа после трансфекции процент Су-3 положительных МНПК составил: 0,3 % – в контроле, 5,1 % – в клетках с добавлением 1 пМ миРНК, 25,3 % – в клетках с добавлением 10 пМ миРНК и 35,0 % – в клетках с добавлением 20 пМ миРНК. После 48 ч культивирования наблюдали снижение процента трансфецированных клеток примерно в два раза вне зависимости от дозы миРНК. Через 72 ч после трансфекции процент Су-3 положительных МНПК в тестируемых культурах снижался до значений контрольных показателей. На основе полученных результатов были выбраны две дозы миРНК в 10 пМ и 20 пМ.

Добавление миРНК в дозе 10 пМ приводило к снижению относительного уровня экспрессии мРНК DR3. Эффект сохранялся в течение трех суток после трансфекции. Через 24 ч после трансфекции относительный уровень экспрессии мРНК DR3 снижался в 1,5 раза ($p = 0,047$), через 48 ч – в 1,7 раза ($p < 0,001$), через 72 ч – превышал в 1,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с неспецифическим контролем. Трансфекция миРНК в дозе 20 пМ не сопровождалась статистически значимым изменением относительного уровня экспрессии

мРНК DR3 по сравнению с неспецифическим контролем.

При добавлении миРНК в дозе 10 пМ на фоне снижения концентрации мРНК также наблюдалось снижение экспрессии белка DR3. По сравнению с контролем через 24 ч после трансфекции количество белка, детектируемого с помощью иммуноблоттинга, снижалось в 1,2 раза ($p < 0,001$), а через 48 ч – в 1,5 раза ($p < 0,001$) по сравнению с неспецифическим контролем. На третьи сутки содержание белка DR3 в трансфецированных клетках возрастало по сравнению с контрольными МНПК в 2,3 раза ($p < 0,001$). Добавление миРНК в дозе 20 пМ не приводило к статистически значимым изменениям содержания белка по сравнению с неспецифическим контролем в течение всего наблюдаемого периода после трансфекции.

По итогам работы определены оптимальные условия для нокдауна гена DR3 в первичных МНПК человека. Дозировка трансфецирующих реагентов на 40 тыс. клеток составила: 10 пМ для коктейля миРНК и 0,3 мкл для липофектамина. Снижение экспрессии мРНК и белка DR3 наблюдали спустя 24 ч после трансфекции, эффект сохранялся в течение 48 ч.

Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы при *in vitro* моделировании для изучения механизмов иммунопатогенеза вирусных инфекций, поиска диагностических маркеров и мишеней лекарственной терапии.

ФРОЛОВ Д.М., ЗАМАРИНА Т.В., СЕНИНА Т.В., ХАНАНИ Е.И.

РЕАКЦИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ НА СТЕКЛЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ МЕЛИОИДОЗА

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Волгоград

Burkholderia pseudomallei – возбудитель мелиоидоза, опасного инфекционного заболевания, эндемичные очаги которого имеются в регионах Юго-Восточной Азии и на Северной территории Австралии.

В последние годы увеличилось число спорадических случаев заболеваний мелиоидозом в Европе и странах Латинской Америки. В России до сих пор не было зарегистрировано ни одного достоверного случая мелиоидоза, однако, посещение эндемичных регионов является фактором риска инфицирования *B. pseudomallei*, что не исключает опасность завоза этой инфекции на территорию нашей страны.

Возбудитель мелиоидоза обладает выраженными патогенными свойствами для человека и

животных. Клинические проявления мелиоидоза разнообразны, наиболее опасны септические формы заболевания (септицемии), при которых в зонах эндемичного распространения возбудителя при отсутствии адекватного лечения показатели летальности нередко достигают 70–90 %. Решающим фактором для выявления инфекции и начала своевременного лечения служит ранняя лабораторная диагностика, направленная на обнаружение и идентификацию патогена. Одним из широко применяемых иммунодиагностических методов идентификации микроорганизмов является реакция агглютинации со специфическими антителами.

Целью работы явилась оптимизация условий постановки реакции агглютинации на стекле с

применением моноклональных антител различной эпитопной направленности для идентификации возбудителя мелиоидоза.

В работе использовали микроорганизмы II группы патогенности: *B. pseudomallei* (7 штаммов) и *Burkholderia mallei* (4 штамма). Бактериальные культуры выращивали на плотной питательной среде АГК с глицерином (рН 6,8) при 37 °С. Также была подобрана панель моноклональных антител (МКА) к возбудителю мелиоидоза, в состав которой входили: семь вариантов МКА к антигену 8 (гликопротеину капсулы с молекулярной массой 800–900 кДа), четыре – к гликопротеину капсулы 200 кДа и два к антигену 6 (фрагмент липополисахарида клеточной стенки *B. pseudomallei*). МКА были получены в лаборатории иммунодиагностики ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

Для постановки реакции агглютинации на стекле использовали обезжиренные чашки Петри, подогретые до 37 °С. До начала опыта готовили суточные бактериальные взвеси, концентрацией $1-2 \times 10^9$ м.к./мл и образцы МКА различной концентрации. Взвеси и антитела разводили в стерильном

физиологическом растворе, который использовали и в качестве контроля. МКА и взвеси по 50 мкл смешивали в соотношении 1:1. Учет реакции осуществляли через 10 минут, степень агглютинации бактерий оценивали по четырехкрестовой системе.

В результате было установлено, что наибольшей агглютинирующей активностью обладали МКА Prm I и 1E12, узнающие эпитопы капсульного антигена 8 на поверхности патогенных буркхолдеров *B. pseudomallei* и *B. mallei*. Реакция с этими антителами была положительной (3–4 креста) со всеми семью штаммами *B. pseudomallei*, с тремя штаммами *B. mallei* у Prm I и двумя у 1E12. Остальные варианты МКА из рабочей панели проявляли агглютинирующую активность лишь в отношении единичных штаммов.

В целом изучение эффективности применения мелиоидозных МКА различной эпитопной направленности для идентификации *B. pseudomallei* с помощью реакции агглютинации на стекле позволило определить наиболее перспективные варианты МКА, которые необходимо проверить на самом широком наборе штаммов возбудителя мелиоидоза и гетерологичных микроорганизмов с оптимизацией условий постановки.

**ХВОЙНОВА И.Г., ТОКМАКОВА Е.Г., ЗАХЛЕБНАЯ О.Д., ВИТЯЗЕВА С.А.,
БАЛАХОНОВ С.В.**

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора,
Иркутск

Открытие Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы относится к 1961 г., когда на участках Большие Сары-Гобо и Низ Уландрыка были выделены первые культуры возбудителя этой инфекции. С тех пор он остается самым активным среди очагов чумы на территории Российской Федерации – культуры здесь изолируют ежегодно. С 2012 г. в очаге выделяют штаммы основного подвида. До 2015 г. паспортные данные о чувствительности штаммов чумного микроба к антибактериальным препаратам (АБП) относятся только к стрептомицину, кроме которого в МУЗ.4.1030-01 «Организация, обеспечение и оценка противэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий в случае завоза или возникновения особо опасных инфекций, контактирующих вирусных геморрагических лихорадок, инфекционных болезней неясной этиологии, представляющих опасность для населения Российской Федерации и международных сообщений» для лечения и профилактики чумы рекомендовано еще

15 препаратов. Чувствительность коллекционных штаммов к этим антибиотикам не проверялась, хотя именно из них формируют резерв на случай необходимости экстренного лечения.

Цель работы – определение чувствительности к АБП штаммов чумного микроба, выделенных в Горно-Алтайском очаге чумы, из коллекции Иркутского противочумного института. Всего был изучен 51 штамм *Yersinia pestis*, 45 из которых – алтайского подвида, 1961–1981 гг. выделения; 6 штаммов – основного подвида 2014–2016 гг. Использовали восемь АБП: стрептомицин, канамицин, амикацин, ципрофлоксацин, цефотаксим, гентамицин, доксициклин, левомицетин. Чувствительность к ним определяли методом серийных разведений (МСР) в агаре Мюллера–Хинтона согласно МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей особо опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сальмонеллез, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам». В агар Мюллера–Хинтона (МХ, рН $7,3 \pm 0,2$) вводили

следующие концентрации АБП: стрептомицин – 1–2–4–8–16–32–64 мг/л, амикацин – 1–2–4–8–16–32–64 мг/л, гентамицин – 2–4–8–16 мг/л, цефотаксим – 0,125–0,25–0,5–1–2–4 мг/л, ципрофлоксацин – 0,004–0,008–0,016–0,032–0,064–0,125–0,25–0,5–1,0 мг/л, канамицин – 1–2–4–8–16–32–64 мг/л, доксициклин 0,25–0,5–1–2–4–8–16 мг/л, левомицетин 0,5–1–2–4–8–16 мг/л. Диапазон вводимых в среду количеств АБП был сознательно расширен в сторону малых доз, чтобы более точно установить значения минимальных подавляющих концентраций (далее МПК), а не только факт чувствительности или устойчивости штаммов.

При оценке надежности полученных результатов опирались на значения минимальных подавляющих концентраций (МПК) АБП для контрольных штаммов *Escherichia coli* 25922 АТСС и *Y. pestis* EV НИИЭГ. Значения чувствительности этих штаммов соответствовали приведенным в МУК 4.2.2495-09.

Все тестированные штаммы были чувствительны (S) к исследованным группам антибиотиков,

резистентных (R) не выявили. МПК АБП составила (алтайский/основной подвид): стрептомицина 1–4/2–4 мг/л, амикацина 1–4/2 мг/л, канамицина 1–4/2–8 мг/л, гентамицина 0,5–2/1–2 мг/л, ципрофлоксацина 0,004–0,064/0,032–0,064 мг/л, цефотаксима 0,008–0,016/0,008 мг/л, доксициклина 0,5–1/1–2 мг/л, хлорамфеникола 2–4/не изучали мг/л. Интересно, что наибольшие значения МПК среди штаммов основного подвида были зарегистрированы у изолятов от сурков 2016 г. выделения, а не от больных, получавших антибиотикотерапию.

Таким образом, изучение антибиотикочувствительности выбранных нами штаммов алтайского и основного подвидов показало тенденцию увеличения значений МПК у штаммов основного подвида. Возможно, аналогичное явление мы бы наблюдали и у штаммов алтайского подвида, выделенных в период 2014–2016 гг. Но пока это только предположение. Таким образом, исследования в данном направлении будут продолжены.

ХРОМОВА П.А.¹, ФЕДОТОВА Я.С.², ЛЕОНОВА В.С.³, КОРНИЛОВ М.С.⁴

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ШТАММОВ *Mycobacterium tuberculosis* НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

¹ ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск

² ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Иркутск

³ ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск

⁴ ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток

Эпидемиологическая обстановка по туберкулезу в мире и РФ в частности имеет неблагоприятную тенденцию. По данным бюллетеня ВОЗ 2017 в 2015 г. туберкулезом заболели 10,4 миллиона человек. Из них у 480 000 людей развился туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (ВОЗ). При этом на долю Китая, Индии и РФ приходится почти половина всех случаев МЛУ-ТБ в мире, и число их растет. Основную роль в этом играют штаммы семейства Пекин, которые общепризнанно считаются пандемическими и наиболее вирулентными. В связи с этим, возникает необходимость углубленного исследования генотипического спектра популяций микобактерий туберкулеза (МБТ). Мониторинг генетического разнообразия штаммов имеет значение как для прогнозирования эпидемиологической ситуации на локальной территории, так и дополняет общемировую картину распространения субтипов МБТ.

Данные о присутствии эпидемических клонов на территории Приморского края и Дальнего Востока в целом представлены наиболее скудно среди регионов РФ, поскольку им в этом вопросе было уделено недостаточно внимания. В связи с этим, популяция штаммов МБТ Приморского края стала объектом нашего исследования.

Целью работы являлось проведение генотипирования репрезентативной выборки штаммов, предоставленных Приморским краевым противотуберкулезным диспансером, для оценки особенностей распространения штаммов МБТ в сравнении с Иркутской областью и Якутией.

Было отобрано 100 культур МБТ, выделенных от 94 пациентов с впервые выявленным и хроническим ТБ, проживающих и проходящих лечение в 2015–2016 гг. на территории Приморского края. Средний возраст составил 53,2 ± 21,0 лет, представителей мужского пола среди пациентов – 58

(61,7 %). Хроническое течение заболевания наблюдалось у 39 (41,5 %) человек, а у 55 (58,5 %) – выявлено впервые непосредственно в период сбора проб для данного исследования.

Выделение ДНК проводили из инактивированных культур набором ДНК-сорб В (Интерлаб-сервис), в соответствии с протоколом производителя. Штаммы генотипа Beijing дополнительно проверены на регионы RD105 и RD207. Принадлежность к клональным комплексам (clonal complexes – CCs) CC1 и CC2-W148 (Merker M. et al., 2015) также изучена с помощью ПЦР-РВ тест-систем собственного дизайна (лаборатория д.м.н. Огаркова О.Б.).

Все 100 изолятов были исследованы на отношение к CC1 и CC2 с использованием метода ПЦР-РВ. По его результатам было выявлено, что 22 из них принадлежат к CC2 (W148), и 4 из них – к CC1. В группе образцов, отнесенной к поп-CC2, в количестве 78 проб выявлено 25 различных профилей методом MIRU-VNTR. Большинство из них представлено генотипом Beijing (21/41–51,2 %), единичные случаи – генотипами LAM (1/41–2,4 %), H1 (1/41–2,4 %), Orphan (1/41–2,4 %), микст-культурами «Beijing Mit137/Beijing Mit16» и «X2

Mit36/ORPHAN». При этом доли наиболее часто встречающихся подтипов Beijing – Mit16 и Mit571 – составили соответственно 47,6 % (10/21) и 28,6 % (6/21). Остальные изоляты Beijing относились к подгруппам Mit82, Mit84, Mit101, Mit137, на их долю суммарно пришлось 23,8 % (5/21).

В Иркутской области на долю CC2 пришлось 26,1 % (154/589) (Жданова С.Н. и др., 2017). Статистическая обработка с применением критерия χ^2 показала, что в данных регионах распространенность CC2 (W148) не имеет значимых различий ($\chi^2 = 0,77$; $p = 0,3$). Это было ожидаемо, поскольку Иркутская область и Приморский край, несмотря на географическую удаленность, находились на одной линии миграционных процессов 50–60 гг. XX века. При этом по данным, полученным в Республике Саха (Якутия), доля CC2 (W148) составила 12,2 % (46/377) (Жданова С.Н. и др., 2017), этот показатель достоверно отличается от такового по Приморскому краю ($\chi^2 = 6,21$; $p = 0,01$). Вероятно, такие результаты можно объяснить как географической удаленностью Якутии, так и более низким уровнем миграции в республике в прошлом веке.

ХУТОРЯНИНА И.В., ТВЕРДОХЛЕБОВА Т.И., ДИМИДОВА Л.Л.

РОЛЬ САНИТАРНО-ПАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА СТОЧНЫХ ВОД И ИХ ОСАДКОВ

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии»
Роспотребнадзора,
Ростов-на-Дону

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире поражено паразитами более 4,5 млрд человек. В Российской Федерации паразитарные болезни, несмотря на сокращение обследования населения на паразитозы и снижение показателей заболеваемости, по-прежнему занимают одно из ведущих мест в структуре инфекционной и паразитарной заболеваемости (Хроменкова Е.П. и др., 2015).

Рост количества больных обусловлен загрязнением открытых водоемов неочищенными сточными водами и несовершенством очистки питьевой воды. Результаты санитарно-эпидемиологического надзора за состоянием водных объектов свидетельствуют о неудовлетворительном санитарном состоянии источников водоснабжения по паразитарным показателям

Сточные воды и их осадки являются эпидемиологически значимыми в реализации риска заражения населения паразитарными болезнями. Увеличение

объема сбрасываемых стоков становится источником загрязнения открытых водоемов, причем процессы загрязнения преобладают над процессами естественного самоочищения.

Материалом для исследования были сточные воды и их осадки очистных сооружений канализации отдельных территорий Российской Федерации в 2014–2016 гг. Объектом исследования были яйца гельминтов и цисты патогенных простейших. Санитарно-паразитологическое исследование проб сточных вод канализации и их осадков проводили в соответствии с МУК 4.2.2661-10 «Методы санитарно-паразитологических исследований», МУ 2.1.7.2657-10 «Энтомологические методы исследования почвы населенных мест на наличие преимагинальных стадий синантропных мух».

Основной задачей являлось выявление нестандартных проб (проб с жизнеспособными яйцами гельминтов) изучаемых субстратов, так как они

несут главную опасность в эпидемиологическом отношении. Исследования сточных вод и их осадков проводились на ОСК Республики Адыгея, Ростовской, Астраханская областей, г. Белгород и г. Красноярск.

На очистных сооружениях Республике Адыгея исследовано 36 проб сточных вод и их осадков, из них 44,5 % положительных, 17,4 % нестандартных. Выявлены яйца аскарид и токсокар с интенсивностью от 1 до 3 экз./л/кг. Жизнеспособность выявленных патогенов в стоках до очистки – 41,7 %; после очистки – 17,0 %, осадках – 25,0 % Эффективность дегельминтизации 0,0 %; эффективность дезинвазии 40,0 %.

В Ростовской области за период с 2014 по 2016 гг. проведено 786 исследований изучаемых субстратов и изучено 28 очистных сооружений канализации. Входящие на очистные сооружения стоки и их осадки обсеменены яйцами аскарид, лентеца широкого и токсокар, с интенсивностью 1–10 экз./10 л. Жизнеспособность выявленных патогенов в стоках до очистки – 75,9 %; после очистки – 36,7 %, осадках – 14,1 %. Эффективность дегельминтизации 53,4 %; эффективность дезинвазии 57,8 %.

Санитарно-паразитологические исследования проб сточных вод ОСК г. Астрахань показали, что 25,0 % из них положительные, 8,3 % нестандартные. Выявлены яйца токсокар с интенсивностью от 1 до 3 экз./л/кг. Эффективность дегельминтизации сточных вод составила 25,0 %; эффективность дезинвазии – 25,0 %.

В Красноярске санитарно-паразитологические исследования проб сточных вод и их осадков проводили на 2 ОСК. Входящие на очистные сооружения стоки и их осадки обсеменены яйцами аскарид, описторхов, лентеца широкого, с интенсивностью 1–4 экз./10 л. Жизнеспособность выявленных патогенов в стоках до очистки – 100,0 %; после очистки – 60,0 %, осадках – 28,5 %. Эффективность дегельминтизации составила 12,5 %; эффективность дезинвазии – 32,5 %.

Санитарно-паразитологические исследования проб сточных вод ОСК г. Белгорода показали, что входящие на ОСК сточные воды обсеменены яйцами гельминтов (токсокар, аскарид) с интенсивно-

стью 5 экз./10 л. Жизнеспособность выявленных патогенов в стоках до очистки – 80,0 %; после очистки – 85,2 %. Эффективность дегельминтизации составила 60,0 %; эффективность дезинвазии – 50,0 %. При санитарно-паразитологическом исследовании осадков сточных вод установлено, что в пробах сырого и обезвоженного осадков выявлены жизнеспособные яйца гельминтов, преимущественно аскарид и токсокар, отмечено выявление яиц лентеца широкого, остриц. Интенсивность контаминации составляла от 4 до 10 экз./кг. Жизнеспособность выявленных патогенов зафиксирована в 80,0 %.

В сточных водах, поступающих для очистки на ОСК всех изучаемых территорий, установлен высокий уровень обсемененности, что свидетельствует о наличии жизнеспособного потенциала возбудителей паразитозов, попадающего на этапы очистки сточных вод. На момент отбора проб сточные воды после очистки контаминированы жизнеспособными яйцами гельминтов, что указывает на поддержание напряженности эпидемиологического потенциала риска попадания паразитарных патогенов в окружающую природную среду. Высокий уровень паразитарной нагрузки на данные субстраты и низкий уровень дегельминтизации и дезинвазии свидетельствуют о необходимости применения дополнительных средств и методов дезинвазии.

Полученные результаты исследования сточных вод и их осадков на ОСК представляют значительную вариабельность. Очистные сооружения канализации на изученных территориях при наличии всех стадий очистки не обеспечивают полную дегельминтизацию и дезинвазию (инактивацию жизнеспособных яиц гельминтов) поступающих на них сточных вод и образующихся осадков, загрязняя при этом окружающую среду, прежде всего, почву и открытые водоемы.

Данные санитарно-паразитологических исследований свидетельствуют о поддержании напряженности эпидемиологического потенциала риска попадания паразитарных патогенов с очищенными сточными водами в окружающую природную среду (Хуторянина И.В. и др., 2016).

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО НЕКОТОРЫМ ОСТРЫМ КИШЕЧНЫМ ИНФЕКЦИЯМ, АКТУАЛЬНЫМ ДЛЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹ ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора,
Москва

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Минздрава России,
Москва

³ ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора,
Москва

На современном этапе изучения острых кишечных инфекций (ОКИ) особый интерес представляет выявление закономерностей развития эпидемического процесса как широко и повсеместно распространенных ОКИ вирусной этиологии, так и бактериальных инфекций, не теряющих своей эпидемиологической значимости. К числу первой группы следует отнести ротавирусную инфекцию (РВИ), доля которой в структуре ОКИ в России в период с 2005 по 2016 г. увеличилась более чем в 2,5 раза и среди инфекций с установленной этиологией достигла 40 %. Ко второй группе отнесена бактериальная дизентерия, удельный вес которой в структуре ОКИ в целом по стране, напротив, снизился с 8,6 до 1,2 % и в настоящее время среди ОКИ установленной этиологии составляет всего 3,2 %.

Установлено, что одной из причин роста заболеваемости РВИ в Российской Федерации явилось увеличение объемов лабораторной диагностики данной инфекции, благодаря чему уровень заболеваемости вырос в 3 раза и в 2016 г. составил 83,3 случая на 100 тыс. населения. Заболеваемость бактериальной дизентерией, напротив, за последние 12 лет снизилась в 6,5 раз, достигнув своих минимальных значений за весь период наблюдения – 6,6 на 100 тыс. населения.

Неравномерность территориального распределения заболеваемости характерна как для одной, так и для другой нозологии. Однако, если данная неравномерность для РВИ обусловлена в настоящее время в большей мере различиями в качестве лабораторной диагностики, то для дизентерии она также в значительной степени связана с социально-экономическими условиями жизни населения, состоянием питьевого водоснабжения, санитарно-коммунальным благоустройством территорий, а также чрезвычайными ситуациями техногенного и природно-климатического характера.

В результате уровни заболеваемости РВИ в отдельных субъектах страны колеблются от максимальных, превышающих среднестатистические значения по стране (Ямало-Ненецкий АО, Ханты-Мансийский АО, Вологодской, Сахалинской, Тюменской областях и др.), до полного отсутствия

регистрируемых случаев за весь период наблюдения (Чеченская Республика).

Территориями риска по дизентерии, где заболеваемость на протяжении ряда лет превышала среднероссийскую, в настоящее время являются республики Тыва, Дагестан, Хакасия, Астраханская область и ряд других территорий. Ежегодно не регистрируется ни одного случая заболевания на территории 2–4 субъектов страны (в 2016 г. – Республика Калмыкия и Ненецкий АО).

Известно, что наличие сезонности является одним из проявлений эпидемического процесса. Для РВИ она характеризуется выраженным подъемом заболеваемости в зимне-весенний, а для бактериальной дизентерии – в летне-осенний период. Между тем, для данных инфекций установлены некоторые различия во времени начала подъема и продолжительности сезонной заболеваемости в зависимости от региона. Так, например, по средне-многолетним данным, в Архангельской области наблюдается 2 подъема заболеваемости бактериальной дизентерией с пиком в мае и сентябре. В Ставропольском крае отмечается 2 пика сезонной заболеваемости РВИ – в марте и сентябре.

Следующая эпидемиологическая особенность ОКИ, и в т.ч. РВИ и дизентерии – наличие высокого риска заболеваемости среди детей. Установлено, что в России удельный вес детей до 17 лет в структуре заболеваемости РВИ составляет 90 %, а в структуре заболевших бактериальной дизентерией – 56 %.

Одним из обязательных критериев, используемых для оценки эпидемиологической ситуации, является характер вспышечной заболеваемости. По нашим данным, доля пострадавших во вспышках РВИ в разные годы составляла от 1 до 5 % от общего числа зарегистрированных случаев. Вспышечная заболеваемость РВИ чаще регистрировалась в дошкольных образовательных организациях (ДОО) – 80 % от общего количества вспышек. Доля вспышечной заболеваемости бактериальной дизентерией в последние годы наблюдений не превышала 10 % от общего числа зарегистрированных в стране случаев. Отмечается тенденция к

снижению количества вспышек дизентерией, при этом в ДОО по среднесрочным данным регистрируется 28 % вспышек дизентерии от числа зарегистрированных в стране (в 2016 г. – 14 %). Среди неорганизованного населения зарегистрировано в среднем 23 % вспышек, в них наблюдалось наибольшее число заболевших – 36 % от всех случаев вспышечной заболеваемости (в 2016 г. 24 и 22 % соответственно).

Наличие средств специфической профилактики в отношении РВИ и бактериальной дизентерии открывает возможности повышения эффективности управления эпидемическим процессом данных инфекций. На территории Российской Федерации специфическая профилактика ОКИ осуществляется в рамках календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям, при этом применяются разные стратегии. Так, иммунизация против РВИ направлена на снижение заболеваемости детей ранних лет жизни. Она проводится в России на протяжении 3-х последних лет. Из года в год расширяется география применения вакцинации (2014 г. – 32 субъекта страны, в 2016 г. – 52). В 2016 г. в России привито около 38 тыс. детей. Однако объемы вакцинации крайне незначительны, максимальное количество привитых сосредоточено в 2–3 субъектах страны (г. Москва, Свердловская и Тюменская области). Вместе с тем, на учете в медицинских организациях страны ежегодно стоит в среднем 1,7 млн. детей в возрасте до 12 мес., и, следовательно, масштабы вакцинации должны соответствовать данным объемам, в частности в тех субъектах страны, где наблюдается высокая заболеваемость, в том числе детей до года.

Иммунизация против дизентерии Зонне направлена на защиту декретированных контингентов, а также населения, подвергающегося риску заражения в эпидемических очагах. Объемы иммунизации населения против дизентерии Зонне в целом по стране ежегодно составляют в среднем 190 тыс. человек, вакцинация проводится в 30–46 субъектах. В большинстве случаев прививаемые контингенты составляют работники, занятые в сфере общественного питания, коммунального благоустройства и другие группы риска, а также лица, получившие прививки по эпидемическим показаниям. Вместе с тем, качество иммунопрофилактики, проводимой среди населения также имеет существенные региональные различия. В 2016 г. было привито более 208 тыс. человек в 46 субъектах страны, но при этом отмечается крайне неравномерное распределение привитых по субъектам страны от 1,5 % охвата населения субъекта данными прививками (Свердловская область), до полного отсутствия привитых. Следует учесть, что в разные годы значительное увеличение количества привитого населения отдельных субъектов страны связано с крупными вспышками дизентерии или чрезвычайными ситуациями.

Таким образом, ситуация по изученным актуальным ОКИ далека от благополучия, о чем свидетельствуют описанные проявления эпидемического процесса, существующие риски, а также недостаточное качество проводимых профилактических мероприятий, что является основанием для их коррекции с учетом региональных эпидемиологических особенностей.

**ЧЕХЛЯЕВА Т.С., ШУЛЬГА С.В., УРБАН Ю.Н., ЦВИРКУН О.В., МАМАЕВА Т.А.,
НАУМОВА М.А., ТИХОНОВА Н.Т.**

КОРЬ В РОССИИ, ДАННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА ЗА 2015–2017 ГГ.

ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора,
Москва

Глобальный стратегический план ВОЗ предполагает достижение к 2020 г. элиминации кори по крайней мере в 5 из 6 регионов ВОЗ. Благодаря высокому уровню охвата населения вакцинацией и наличию эффективно действующей системы эпидемиологического надзора заболеваемость корью в России в период 2015–2017 гг. сохранялась на низком уровне.

Верификация элиминации инфекции требует доказательства отсутствия эндемичной циркуляции вируса на территории страны/региона на протяжении не менее 36 месяцев. В рамках реализации

программ элиминации кори важная роль отводится генетическому мониторингу циркуляции вируса с целью установления эндемичного или завозного характера случаев инфекции и возможных источников ее импортирования.

На протяжении 2015–2017 гг. на территории Российской Федерации изолировались штаммы вируса кори генотипов D8, N1 и B3, представленные различными генетическими линиями и вариантами вируса, преимущественно импортированными из-за рубежа.

Большинство штаммов вируса, изолированных в указанный период, принадлежат генотипу D8. Данный генотип эндемичен для стран Южной Азии (Индия, Пакистан, Бангладеш); множественное импортирование штаммов генотипа в страны Европы, Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии обуславливает глобальный характер циркуляции некоторых генетических линий вируса генотипа D8 в настоящее время.

Последний подъем заболеваемости корью в России отмечался в первой половине 2015 г. и был связан в значительной степени с повторным импортированием вируса генетической линии D8 MVs/Chui.KGZ/53.14 из Кыргызстана, где в 2014–2015 гг. была зарегистрирована самая масштабная вспышка кори в Европейском регионе ВОЗ за последние годы. Также значительное число случаев и локальных вспышек кори в России в 2015 г. было обусловлено импортированием вируса генетической линии D8 MVi/Villupuram.IND/03.07 из Казахстана. Существенно реже изолировались штаммы генетической линии D8 MVs/Republic of Komi.RUS/35.13, доминировавшей в России в период восстановления эндемичной циркуляции вируса кори (2013–2015 гг.). Прочие генетические линии вируса генотипа D8 (MVs/Rostov-on-Don.RUS/47.13/2, MVi/Hulu Langat.MYS/26.11, MVs/Victoria.AUS/6.11) и отдельные генетические варианты изолировались редко, как правило, от импортированных случаев инфекции из стран Западной Европы, Таиланда и Индонезии, их продолжительная местная циркуляция не наблюдалась.

В середине 2015 г. на фоне снижения заболеваемости циркуляция линий вируса генотипа D8 MVs/Chui.KGZ/53.14 и MVs/Republic of Komi.RUS/35.13 была прервана, что с учетом эпидемиологических данных позволило национальному комитету по верификации элиминации кори в России сделать заключение о прерывании эндемичной циркуляции вируса в стране и достижении фазы элиминации инфекции.

Несмотря на то, что штаммы генотипа D8 продолжали доминировать в России в условиях низкой заболеваемости корью и в дальнейшем, они были представлены преимущественно генетическими линиями вируса, ранее на территории страны не изолировавшимися либо изолировавшимися эпизодически. Так, представители генетических линий D8 MVi/Hulu Langat.MYS/26.11, MVs/Osaka.JPN/29.15, MVs/Cambridge.GBR/5.16 и некоторые другие генетические варианты вируса генотипа D8 неоднократно импортировались из Индонезии, Таиланда, Индии, Бангладеш, Израиля, Украины и характеризовались ограниченным временем циркуляции.

Вирус кори генетической линии D8 MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11 регулярно изолировался на территории России с апреля 2016 г. по

май 2017 г. Существенную долю заболевших составляли жители республик Северного Кавказа, в частности Республики Дагестан и Республики Чечня, на других территориях страны вирус часто выделялся от завозных из указанных регионов случаев кори. Вместе с тем, число случаев инфекции в России, связанных с циркуляцией штаммов линии D8 MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11, было ограниченным, одновременно регистрировались локальные вспышки кори, вызванные данным генетическим вариантом вируса в Германии, Белоруссии и некоторых других европейских странах. Представленные данные указывают на международный характер циркуляции вируса с возможными периодическими завозами инфекции в Россию из-за рубежа, однако полностью исключить эндемичный характер циркуляции вируса на низком уровне, основываясь только на генетических данных, не представляется возможным.

Штаммы генотипа H1 эндемичны для Китая, их распространение в мире в последние годы было связано также со вспышкой кори в Монголии. В России в 2015–2016 гг. эпизодически изолировались штаммы генетических линий H1 MVs/Hong Kong.CHN/42.11 и MVs/Hong Kong.CHN/49.12. Представители генетической линии H1 MVs/Shandong.CHN/13.15/18 были импортированы в 2016 г. (Кемеровская область, Республика Бурятия). Кроме того, данный генетический вариант вируса циркулировал во время вспышки кори в Таджикистане (2016–2017 гг.) и в 2017 г. изолировался от отдельных случаев кори в г. Москва. В целом циркуляция штаммов генотипа H1 носила ограниченный характер, наблюдалась в основном в регионах Сибири и Дальнего Востока, часто была связана с импортированием инфекции (Китай, Монголия, Таджикистан), ни один из генетических вариантов вируса генотипа H1 не циркулировал в России продолжительное время.

Довольно редко в России выделялись штаммы генотипа B3 африканского происхождения. Так, в 2015 г. от импортированного из Египта случая кори был выделен вирус генетической линии B3 MVs/Kansas.USA/1.12. В 2017 г. в г. Москве была зарегистрирована вспышка кори, вызванная вирусом генетической линии B3 MVs/Dublin.IRL/8.16. Вирусы обеих линий ранее в России не изолировались.

В целом, данные генетического мониторинга указывают на связь заболеваемости корью в России в 2015–2017 гг. с импортированием инфекции из разных источников. Вместе с тем, регулярная изоляция штаммов генетической линии D8 MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11 даже в условиях низкой заболеваемости требует тщательного анализа эпидемиологических и генетических данных с целью исключения возможности сохранения эндемичного по критериям ВОЗ характера циркуляции вируса.

ШАРАБРИН С.В.

РАСЧЕТ ЧИСЛЕННОСТИ РЕПРЕЗЕНТАТИВНОЙ ВЫБОРКИ ДЛЯ МОНИТОРИНГА ЦИРКУЛЯЦИИ НПЭВ СРЕДИ ЗДОРОВОГО НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСАФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора,
Екатеринбург

Система Государственного санитарно-эпидемиологического надзора за энтеровирусными инфекциями (ЭВИ) в России регламентирована соответствующими нормативными документами (МУ 3.1.1.2363-08 «Эпидемиологический надзор и профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции», СП 3.1.2950-11 «Профилактика энтеровирусной (неполио) инфекции») и включает в качестве одного из основных направлений мониторинг циркуляции неполиомиелитных вирусов (НПЭВ), который заключается в исследовании клинического материала от больных и проб из объектов внешней среды (сточные воды) как с помощью традиционного вирусологического метода с использованием клеточных культур, так и с применением методов молекулярной диагностики (ПЦР, секвенирование).

Однако решение основной задачи санитарно-эпидемиологического надзора – прогнозирование развития эпидемического процесса по заболеваемости ЭВИ – остается весьма затруднительным, поскольку до настоящего времени не разработан алгоритм анализа и интерпретации результатов мониторинга, что обосновывает актуальность поиска новых подходов к повышению информативности методов исследования эпидемического процесса. Одним из таких подходов является разработка прогностических показателей развития эпидемического процесса энтеровирусного менингита (ЭВМ) на основе результатов молекулярно-генетического мониторинга циркуляции НПЭВ среди здорового населения, анализа информации о динамике интенсивности вирусоносительства и спектра серотипов НПЭВ, циркулирующих на данной территории.

На основе ранее проведенных исследований (Устюжанин А.В. и др., 2015; Шарабрин С.В. и др., 2017), с целью составления краткосрочного эпидемиологического прогноза заболеваемости энтеровирусным менингитом (ЭВМ), нами был предложен параллельный молекулярно-генетический мониторинг носительства НПЭВ среди клинически здоровых детей 3–6 лет и генотипирование НПЭВ у больных ЭВМ (Устюжанин А.В., 2017).

Целью настоящей работы являлся расчет численности репрезентативной выборки для мониторинга циркуляции НПЭВ среди здорового населения в индикаторной возрастной группе в различные периоды года.

Параллельный молекулярно-генетический мониторинг спектра и частоты выявления различных серотипов НПЭВ у клинически здоровых детей индикаторной возрастной группы 3–6 лет (ИВГ) и больных ЭВМ проводился с 2010 по 2016 г. На предмет наличия НПЭВ исследовано 3445 образцов фекалий от ИВГ (случайная выборка) и 669 образцов ликвора от больных ЭВМ.

Индикацию РНК энтеровирусов в клиническом материале проводили с помощью набора реагентов «АмплиСенс Enterovirus-EPh» (ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва) согласно рекомендациям изготовителя. Идентификацию обнаруженных энтеровирусов проводили методом прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей двух участков генома, кодирующих белки VP1 и VP2 (Casas, 2001). Генетическое типирование проводили с помощью программы BLAST методом сравнительного анализа полученных последовательностей с референтными последовательностями геномов энтеровирусов, представленными в международной базе генетических данных GenBank.

Важной частью параллельного мониторинга является расчет численности репрезентативной выборки для ИВГ здоровых детей. Численность репрезентативной выборки для мониторинга носительства энтеровирусов среди клинически здоровых детей находили по формуле, согласно МУ 3.1.3114/1-13: $n = (I \times q \times t^2 \times N) / ((N \times D^2) + (I \times q \times t^2))$, где n – искомая численность выборки; N – численность популяции; t – критерий достоверности (равен 1,96); I – предполагаемая частота носительства на 100 тыс. ИВГ; $q = (R - I)$ где, R – используемая размерность показателя I ; D – выбранная предельно допустимая ошибка показателя (максимально допустимая ошибка составляет не более 25 % от величины показателя I). Расчет численности репрезентативной выборки был выполнен на примере города Екатеринбурга. В городе в среднем за 2010–2016 гг. проживало 1394073 человека, из которых дети 3–6 лет составляли приблизительно 5 % населения – 69704 человека. За период исследования (2010–2016), установлено, что среднемноголетний уровень (СМУ) носительства энтеровирусов среди ИВГ составлял 12,3 % (12300 на 100 тыс. ИВГ).

Согласно расчетам, при данном проценте носительства необходимо в год в среднем производить

около 436 исследований: $(12300 \times (100000 - 12300) \times 1,962 \times 69704) / ((69704 \times (0,25 \times 12300)^2) + (12300 \times (100000 - 12300) \times 1,962)) = 436$. Эпидсезон ЭВМ в г. Екатеринбурге длится 7 месяцев (с мая по ноябрь), следовательно, в течение сезона в месяц необходимо производить не менее 62 исследований. Но процент вирусоносителей существенно менялся на протяжении эпидсезона. На основе многолетних наблюдений было установлено, что подъем как уровня вирусоносительства в ИВГ, так и заболеваемости ЭВМ, начинается в мае. СМУ в мае составлял 7,2 %, июне – 9,8 %, июле – 14,2 %, августе – 18,3 %, сентябре – 17,0 %, октябре – 15,3 %, ноябре – 14,0 %. Пик носительства в среднем за 7 лет приходился на август, а заболеваемости ЭВМ – на сентябрь (42,4 на 100 тыс. ИВГ), после чего наблюдалось снижение как заболеваемости, так и носительства. В декабре начиналась постэпидемическая стадия, уровень носительства за многолетний период наблюдения составлял от 0 до 15 %, в среднем 8,2 %. Заболеваемость ЭВМ в декабре составляла от 0 до 16 на 100 тыс. ИВГ, в среднем за период наблюдения – 8,9. В январе, феврале, марте и апреле наблюдались спорадические случаи ЭВМ. Вирусоносительство в январе и феврале выявлялось с частотой от 0 до 6 %, в марте и апреле – от 0 до 2 %.

В связи с тем, что в мае наблюдается наименьший процент выявления вирусоносительства за 7-месячный период эпидсезона, необходимо увеличивать охват индикаторной группы. Так, если учесть, что уровень вирусоносительства в мае равен 7,2 %, то в год при таком уровне носительства нужно было бы провести 783 исследования, или 112 в месяц за период 7-месячного сезонного увеличения выявляемости вирусоносительства. Аналогично следует увеличить численность выборки и в июне, так как в этот месяц также выявлен низкий уровень выделения энтеровирусов в ИВГ.

Таким образом, поскольку величина 12,3 % рассчитывалась как средняя выявляемость носительства среди обследованных за год, и подавляющее большинство случаев носительства выявлено за период 7-месячного подъема выявляемости, то численность репрезентативной выборки в этом периоде должна быть в среднем не менее 62 исследований в месяц. С учетом помесячной динамики и многолетних наблюдений, следует обеспечить численность репрезентативной выборки в мае и июне не менее 112 человек ИВГ, а в период с июля по ноябрь – не менее 62 человек ИВГ.

ШАХОВ Л.О., ЖУКОВ К.В., СМЕЛЯНСКИЙ В.П.

ЗАВОЗНЫЕ СЛУЧАИ ЛИХОРАДКИ ЗИКА В МИРЕ И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

Лихорадка Зика – острое трансмиссивное инфекционное заболевание, характеризующееся повышением температуры, сыпью на теле, миалгией и артралгией, головными болями, ретроорбитальными болями, негнойным конъюнктивитом. Переносчиком вируса Зика являются комары рода *Aedes* (*Aedes albopictus* и *Aedes aegypti*), резервуаром – приматы, окончательный хозяин – человек. Вирус Зика передается от человека к человеку трансмиссивно (через укус комара), при половом контакте, а также вертикальным способом (от матери к ребенку). Лихорадка Зика является серьезной проблемой для мирового здравоохранения, так как доказана ее связь с микроцефалией у плода и синдромом Гийена–Барре.

До 2007 г. лихорадка Зика была распространена на эндемичных территориях в Африке и Юго-Восточной Азии. В 2007 г. на территории острова Яп (Микронезия) произошла крупная вспышка лихорадки Зика с 185 заболевшими. Клинически у пострадавших заболевание проявлялось в виде лихорадки, сыпи, артралгий, головной боли.

В 2015 г. лихорадка Зика распространилась на территорию Южной Америки. Быстрое распространение лихорадки Зика на новые территории привело к объявлению ВОЗ в феврале 2016 г. чрезвычайной ситуации в области международного здравоохранения. В это время был разработан комплекс мероприятий по локализации вспышек и минимизации потенциальной опасности распространения инфекции на неэндемичные территории.

Значительная часть работы была направлена на разработку мер контроля в отношении переносчиков, предупреждения заражения на эндемичных территориях и меры профилактики распространения завозных случаев. Особое внимание в рекомендациях ВОЗ уделено предупреждению заражения беременных женщин в связи с риском рождения детей с микроцефалией.

Напряженная ситуация по лихорадке Зика сохранялась во время проведения летних олимпийских игр в Бразилии в 2016 г., в связи с возможным

риском заболевания болевщиков и спортсменов, прибывших с неэндемичных по данному заболеванию территорий. По официальной информации ECDC и CDC после проведения олимпийских игр в Бразилии в период июль–август 2016 г. был закономерно зарегистрирован рост числа завозных случаев лихорадки Зика как на территории Европейских стран, так и стран Северной Америки.

По данным РАНО, CDC, ECDC с 2015 по 2017 гг. завозные случаи лихорадки Зика зарегистрированы в 51 стране мира.

Большинство случаев завоза лихорадки Зика зарегистрировано в США. В основном заражение происходило во время посещения американцами Пуэрто Рико. Основной путь инфицирования – трансмиссивный (укус зараженного вирусом комара), также описано заражение половым путем. Среди инфицированных вирусом Зика более 1500 – беременные женщины. Причем имеется информация о 50 случаях рождения детей с микроцефалией у этих женщин. Также, по данным CDC, у 15 инфицированных вирусом Зика подтвержден синдром Гийена–Барре.

На настоящее время странами, эндемичными по лихорадке Зика, являются: страны Африканского региона (Центральная Африканская республика, Демократическая республика Конго, Сенегал, Уганда), страны Северной, Центральной и Южной Америки (Мексика, Гондурас, Колумбия, Французская Гвиана, Коста Рика, Бразилия), страны Азии (Индия, Таиланд, Вьетнам, Сингапур, Филиппины), Микронезия, Доминиканская республика, Французская Полинезия, Пуэрто Рико и ряд других.

На территории Российской Федерации с февраля 2016 г. по август 2017 г. были зарегистрированы 18 завозных случаев лихорадки Зика. Инфицирование произошло во время туристических поездок в

эндемичные по лихорадке Зика страны: Доминиканская республика, Индия, Таиланд, Мексика и Колумбия. Заболевшие являлись жителями городов Москва, Сургут, Челябинск, Новосибирск, Тольятти и Екатеринбург. Клинически заболевания протекали в легкой гриппоподобной форме. Диагноз лихорадки Зика был поставлен на основе клинических, эпидемиологических и лабораторных данных.

В связи с тем, что лихорадка Зика передается от человека к человеку комарами рода *Aedes*, должна быть особая настороженность в связи с возможностью местной передачи инфекции на территориях с установленной циркуляцией потенциальных переносчиков.

Так, на территории черноморского побережья Краснодарского края зарегистрирована циркуляция комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*. Согласно результатам энтомологического исследования, проведенного с июля по сентябрь 2016 г., было доказано присутствие в этом регионе *Ae. aegypti* в минимальном количестве, при выявлении 213 экземпляров *Ae. albopictus*. В связи с ведущей ролью комаров *Ae. aegypti* в передаче вируса Зика и их низкой численностью на данной территории, вероятность случаев местной передачи вируса Зика от больных к здоровым на черноморском побережье минимальна.

Таким образом, напряженная эпидситуация по лихорадке Зика в странах Панамериканского региона, Юго-Восточной Азии и Африки создает потенциальную опасность завоза лихорадки Зика на неэндемичные территории, в том числе на территорию Российской Федерации.

В связи с вышеизложенным, актуальным является выполнение рекомендаций по предупреждению распространения лихорадки Зика на неэндемичные по данному заболеванию страны.

ШИПЕЛИН В.А.¹, КУДАН П.В.¹, ЗГОДА В.Г.², ГМОШИНСКИЙ И.В.¹,
ХОТИМЧЕНКО С.А.¹

ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА *IN VIVO*. АНАЛИЗ НА ПРОТЕОМНОМ УРОВНЕ

¹ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии»,
Москва

² ФГБУН «Институт биомедицинской химии им. В.М. Ореховича»,
Москва

Наночастицы металлического серебра (НМС) являются самым популярным продуктом нанотехнологической промышленности во всем мире и используются в широком ассортименте потребительской продукции. Имеется ряд данных о токсичности НМС при поступлении в желудочно-кишечный тракт, что является источником риска

при контакте человека с данным наноматериалом. Из данных литературы известно, что НМС может обладать токсическими эффектами в отношении клеток эукариот в культуре, водных и почвенных организмов, лабораторных животных при ингаляционном, эпикутанном и пероральном введении. Механизм нанотоксичности НМС, по современным

представлениям, состоит в их способности проникать через биологические барьеры организма, накапливаться в клетках и высвобождать в них в высоких локальных концентрациях ионы Ag^+ под действием окислителей, в том числе эндогенных. Этот механизм действия получил в литературе название «эффекта троянского коня». Серебро является клеточным ядом ввиду его способности необратимо ингибировать ферменты и мембранные транспортеры, содержащие тиоловые группы.

В этой связи, целью работы являлся поиск биологических маркеров токсического действия и анализ влияния НМС на протеом микросомальной фракции печени (МФП) при пероральном пути поступления в подостром токсикологическом эксперименте длительностью 92 дня.

В эксперименте использовали НМС в составе препарата «Арговит-С®» с диаметром в интервале 5–80 нм по данным трансмиссионной электронной микроскопии и динамического лазерного светорассеяния. Препарат вводили ежедневно растущим крысам-самцам линии Вистар в дозах 0,1; 1,0 и 10 мг/кг массы тела (м.т.) в течение 92 суток. Животные двух контрольных групп получали очищенную воду и водный раствор стабилизатора поливинилпирролидона. По окончании эксперимента у животных выделяли МФП и изучали ее белковый состав (протеом) методом 2D-электрофореза в полиакриламидном геле с последующей идентификацией переменных белковых пятен масс-спектрометрически – методом наноВЭЖХ-МС/МС высокого разрешения.

В результате введения НМС животным в указанных дозах в составе МФП появлялось, соответственно, 8, 6 и 8 белков, отсутствовавших в контрольных группах. Из их числа с высокой степенью достоверности была идентифицирована субъединица 1 активаторного комплекса протеасомы (ген *Psme1*). Экспрессия белка теплового шока HSP60 (ген *Hspd1*) была повышена в группе животных, получавших НМС в максимальной дозе. Прием НМС сопровождался исчезновением из протеома МФП белка, идентифицированного как $\beta 2a$ цепь тубулина, ген *Tuba1b*. Экспрессия каталазы, присутствовавшей в протеоме МФП животных всех групп, была достоверно количественно снижена при дозах НМС 0,1 и 10 мг/кг м.т.

Таким образом, как показали проведенные исследования, НМС серебра оказывают значимое влияние на протеом МФП крыс, что проявляется не только в исчезновении, но и в появлении под действием этих НЧ ряда белковых пятен. Часть этих эффектов в наибольшей степени наблюдается при минимальной дозе серебра (группа 3), другие характерны, главным образом, для высоких доз наноматериала (группы 4 и 5). Отсутствие четкой зависимости доза-эффект представляет из себя одну из ключевых проблем нанотоксикологии, наиболее четко проявляющуюся для такого наноматериала,

как углеродные нанотрубки, однако свойственную и различным другим видам наночастиц и связанную, предположительно, с эффектами агрегации нанообъектов при высоких дозах.

Наиболее четко проявляющимся из числа выявленных воздействий НЧ серебра на протеом печени крыс является экспрессия белка субъединицы 1 активаторного комплекса протеасомы (*Psme1*). Как известно, протеасомы представляют собой внутриклеточные мультимолекулярные белковые комплексы, ответственные за контролируемую, зависящую от убиквитина и АТФ деградацию (протеолиз) излишних для клетки белков. Включение протеасомного протеолиза (являющегося альтернативой двум другим системам внутриклеточной деградации белков – лизосомальному и каспазному протеолизу) находится под контролем мультимолекулярного белкового активаторного комплекса PA28, ключевым конструкционным элементом которого является белок *Psme1*. По данным литературы, экспрессия этого фактора повышается при оксидантном стрессе, участвует в механизме аутоиммунного повреждения β -клеток поджелудочной железы, а также маркирует резистентность некоторых видов опухолевых клеток к химиотерапии. Полученные нами данные указывают на роль протеасомной деградации белков, как звена нарушений, развивающихся в клетках печени под действием накапливающихся в них НМС, и значение *Psme1* в качестве нового биомаркера нанотоксичности серебра.

Hsp60 (60-кД белок теплового шока, шаперонин), как показали проведенные исследования, характеризуется повышенным содержанием в МФП при наибольшей из использованных в работе доз серебра – 10 мг/кг м.т. В норме данный белок, отвечающий за поддержание нормальной конформации других синтезируемых *de novo* белков, локализован преимущественно в митохондриях, однако в условиях геморрагического стресса, острой физической нагрузки, при действии аномального метаболита стероидного обмена 27-гидроксихолестерола возможен выход этого белка в цитоплазму и фракцию эндоплазматических мембран. Одной из особенностей Hsp60 является его тесная связь со статусом селена в организме. В нашем исследовании повышенный уровень Hsp60 в МФП от крыс группы 5 очевидно коррелирует с ранее выявленным у них глубоким нарушением селенового статуса, вызванного микроэлементным антагонизмом серебра и селена.

Установленное у крыс, получавших НМС, снижение экспрессии в печени белка, идентифицированного как фрагмент $\beta 2a$ цепи тубулина, может свидетельствовать о глубоком нарушении в этих условиях функции микротрубочек цитоскелета, что связано с ранее выявленными морфологическими нарушениями в гепатоцитах этих животных.

Каталаза является функционально значимым конститутивным белком, экспрессированным в МФП животных всех групп, за исключением одной крысы из группы 5. Однако, количественная мера продукции этого белка, оцененная по величине нормализованной оптической плотности его пятна, видимым образом снижается под влиянием НМС, причем наиболее заметно – в максимальной дозе. Известно, что снижение уровня каталазы является маркером гепатотоксического действия диклофенака, кадмия, гепато- и нефротоксичности атразина в сочетании с этанолом. Полученные в настоящем исследовании данные показывают, что это же может относиться к эффектам гепатотоксичности высоких доз серебра в форме НЧ.

Таким образом, протеомное исследование МФП крыс, получавших в подостром эксперименте длительностью 92 суток НМС, позволило выявить ряд новых биомаркеров гепатотоксического действия данного наноматериала, в первую очередь повышенную экспрессию субъединицы 1 протеасомного активаторного комплекса и белка теплового шока Hsp60, а также снижение уровней β 2a цепи тубулина и каталазы. Выявленные изменения коррелируют с наблюдаемой морфологической и биохимической картинами действия НЧ серебра у этих животных и согласуются с тем, что печень является одной из основных мишеней токсического действия НМС при их многократном пероральном поступлении.

ШКАРЛЕТ Г.П. ¹, ЕВЧЕНКО Ю.М. ¹, МОЗЛОЕВ Г.А. ²

К ВОПРОСУ О ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

¹ ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь

² ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция» Роспотребнадзора, Нальчик

Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы в недавнем прошлом являлся самым активным из всех очагов Российской Федерации. Однако в последние два десятилетия активность эпизоотий в этом очаге снизилась, а начиная с 2007 г. она проявляется лишь косвенными свидетельствами в виде единичных находок горных сусликов с антителами к чумному микробу. Причиной этому являются факторы как природного, так и антропогенного характера. Одним из них является существенное снижение поголовья выпасаемого скота на Центральном Кавказе, обусловившее зарастание горных степей, альпийских и субальпийских лугов многолетними травами и подлеском, что сделало эти территории непригодными для жизнедеятельности сусликов.

Целью данной работы было изучение возможности использования в качестве прогностического признака эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага данных об интенсивности отгонного животноводства.

Для этого проанализированы литературные сведения о влиянии выпаса скота на расширение площадей, заселенных сусликами, а также некоторые результаты эпизоотологического обследования природного очага.

Известно, что формирование природных очагов чумы сусликового типа происходило с участием

антропогенных факторов: на площадях, «выбитых» скотом, чаще всего овцами, формировался ландшафт, благоприятный для жизнедеятельности сусликов. Например, бурное развитие товарного животноводства на юге России в начале 20 века, сопровождавшееся вторичным опустыниванием степных ландшафтов, привело к расширению границ ареала и повышению численности малого суслика. Прежде процесс проникновения сусликов в восточные районы Ростовской области, северные районы Чечено-Ингушетии и Ставропольского края ограничивался целинными, высокотравными Сальско-Донскими и Ставропольскими степями. Значительное расширение границ очаговой по чуме территории в указанном направлении способствовало развитию эпизоотий и эпидемий чумы в 20–30 гг. двадцатого столетия. С другой стороны, изменение ландшафтов в сторону непригодных для суслика условий существования, ведет к сокращению границ ареала. Так, на территориях с легкими песчаными и супесчаными почвами неумеренный и длительный выпас скота неблагоприятен для сусликов, ибо он способствует деградации растительного покрова, резкому усилению ветровой эрозии, формированию подвижных песков. Земледельческое освоение целинных земель (особенно крупных массивов) ведет к расчленению поселений сусликов и полному их исчезновению на распаханых территориях (Под ред. Попова Н.В., 2016).

Распространение сусликов из Предкавказских степей в горы Кавказа происходило также по скотопрогонным трактам. Развитие отгонного скотоводства в центральной части Северного Кавказа возникло около 4 тысяч лет назад (Князев А.В., Савинецкий А.Б., 1992; Савинецкий А.Б., 1992). С этого времени стало возможным проникновение сусликов в высокогорье. По мнению О.А. Ермакова с соавт. (2006), современные популяции горного суслика возникли не ранее 4 тысяч лет назад в связи с образованием безлесных коридоров в результате отгонного животноводства. Допускается, что было несколько волн проникновения сусликов в горы, и, соответственно, периодов изоляции горных сусликов от равнинных. Например, в связи с приходом войск Тамерлана в 13–14 вв. горные районы оказались отрезанными от равнинных. В это время отмечается перерыв в существовании отгонного скотоводства, т.к. население гор перешло к ведению приусадебного скотоводства. Данными исследователями предлагается считать горного суслика не отдельным видом, а хорошо дифференцированным подвидом малого суслика *Spermophilus rugtaeae musicus*.

Первоначально суслики проникли из Предкавказских степей в долины горных рек Приэльбрусья (Чегем, Баксан и др.), а затем эти зверьки стали продвигаться в субальпийские и альпийские луга. Ландшафт и климат Центрального Кавказа способствует формированию провинций, разнообразных по температурам и степени увлажнения. Долины горных рек и водоразделы между ними делят ареал суслика на участки, которые послужили естественной основой для деления природного очага на ландшафтно-эпизоотологические районы: Верхне-Кубанский; Кубано-Малкинский; Малко-Баксанский; Баксано-Чегемский; Чегемо-Черекский. В указанных районах природного очага выделены 60 популяций горного суслика, что послужило свидетельством о независимой микроэволюции в изолированных популяциях носителя и как следствие – возбудителя чумной инфекции (Евченко Ю.М. и др., 2013).

Снижение на рубеже 20 и 21 веков поголовья скота, выпасаемого в горах, привело к уменьшению ксероморфности растительного покрова, что вызвало сокращение на 35,5 % площади поселений суслика: от 35050 га до 22610 га. При этом достигнут столь значительный противоэпизоотический

эффект, которого не удавалось получить в период проведения профилактических противочумных мероприятий по снижению численности носителей и переносчиков в 80-х годах прошлого столетия (Мадянов Н.Н., 2006).

Длительность депрессивного состояния природного очага чумы в значительной мере определяется сроками восстановления площадей, пригодных для жизнедеятельности популяций горных сусликов. При составлении прогнозов, разных сроков действия, эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы целесообразно учитывать интенсивность отгонного животноводства (Куличенко А.Н. и др., 2011).

В настоящее время обозначилась тенденция роста численности сусликов за счет восстановления «сусликового ландшафта». Так, в Кубано-Малкинском ландшафтно-эпизоотологическом районе численность сусликов возросла в окрестностях кошар частного пользования, где в результате локального перевыпаса скота постепенно восстанавливается «сусликовый ландшафт». Такие явления наблюдаются в районе Бийчесынского сырзавода, в урочищах Коштан, Гижгит, Алмалы и др. Важно отметить, что в этих поселениях в период высокой эпизоотической активности практически ежегодно регистрировались эпизоотии чумы. Тенденция восстановления численности горного суслика сопряжена с риском активизации эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы (Герасименко Е.В. и др., 2017).

Таким образом, подъем численности горного суслика и эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы, вероятно, произойдет при восстановлении масштабов отгонного животноводства до уровня, сопоставимого с восьмидесятыми годами прошлого столетия. На реальность этой перспективы указывают планы правительств КБР и КЧР о более полном использовании возможностей высокогорных пастбищ Центрального Кавказа. В рамках эпизоотологического надзора прогнозирование эпизоотической активности следует осуществлять, учитывая численность выпасаемого скота в разных ландшафтно-эпизоотологических районах Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы.

ШТРЕК С.В., РУДАКОВ Н.В., БЕРЕЗКИНА Г.В., САМОЙЛЕНКО И.Е., КУМΠΑН Л.В.,
РЕШЕТНИКОВА Т.А., АБРАМОВА Н.В.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К РИККЕТСИЯМ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПРИСАСЫВАНИЯ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ В ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

ФБУН «Омский НИИ природноочаговых инфекций» Роспотребнадзора,
Омск

В России в настоящее время регистрируют заболевания двумя риккетсиозами группы КПЛ – сибирским клещевым тифом (СКТ) и астраханской пятнистой лихорадкой (АПЛ) (Рудаков Н.В. и др., 2011). За последние три года по данным официальной регистрации в России выявлено 4692 случая заболевания СКТ. Этиологический агент СКТ – *Rickettsia sibirica*. Нозоареал СКТ со значительными эпидемиологическими проявлениями довольно обширен и охватывает все южные регионы Сибири, Приамурье, Приморье с его островной частью (Рудаков Н.В. и др., 2012). В 2009 г. впервые выявлены случаи КР в Называевском районе Омской области. Установлено существование нового природного очага, эпидемическое проявление которого отмечается с 2003 г. В пробе клещей *Dermacentor marginatus* идентифицирована *R. sibirica* молекулярно-биологическими методами (ПЦР+секвенирование). В 2014 г. в клещах *D. reticulatus*, снятых с людей в различных районах Омской области, выявлена ДНК *Rickettsia raoultii*, *Candidatus Rickettsia tarasevichiae* и *Rickettsia slovaca* (Березкина Г.В. и др., 2014). Полученные данные подтверждают циркуляцию различных клещевых риккетсий на территории Омской области.

Для выявления антител к риккетсиям группы КПЛ, по данным отечественной литературы, используются преимущественно серологические методы (РА, РСК, РНГА, РНИФ, ИФА). К настоящему времени не выпускается ни один коммерческий диагностикум для указанных методов. Регламентированными серологическими методами для верификации диагноза служат реакция связывания комплемента и реакция непрямой иммунофлюоресценции. Коммерческие цельнорастворимые антигены для РСК позволяют с высокой специфичностью выявлять антитела, но с недостаточной чувствительностью в ранней фазе заболевания. В РСК отсутствует четкая видовая дифференциация внутри групп сыпного тифа и КПЛ, хотя титры антител обычно бывают выше к гомологичному антигену (Самойленко И.Е. и др., 2014).

РНИФ характеризуется высокой чувствительностью, быстротой получения результата, низкой затратой сыворотки и антигенов для проведения анализа и возможностью одновременного тести-

рования одного образца сыворотки с несколькими антигенами. Для постановки РНИФ используют «слайд-антигены», получаемые на культурах клеток из эталонных штаммов соответствующих видов риккетсий в специализированных риккетсиологических лабораториях (Самойленко И.Е. и др., 2014).

Для повышения эффективности верификации диагноза СКТ в последние годы в Омском НИИ природно-очаговых инфекций предложен непрямой твердофазный вариант иммуноферментного анализа на основе цельнорастворимого антигена. Иммуноферментный анализ является высокочувствительным и специфичным методом обнаружения антител к антигенам риккетсий. Применение ИФА с конъюгатами к разным типам иммуноглобулинов (IgG и IgM) позволяет дифференцировать антитела по классам иммуноглобулинов (Абрамова Н.В. и др., 2012).

Цель работы – сравнить методы серологической диагностики, с расчетом чувствительности и специфичности, для разработки эффективного алгоритма лабораторной диагностики КР.

В работе был использован 161 образец сывороток крови от людей с подозрением на клещевые инфекции, имеющие в анамнезе присасывание клеща или клиническую картину, схожую с риккетсиозом группы КПЛ. Из них 24 сыворотки жителей из города Омска, 124 – жителей из Называевского района и 13 – из других районов Омской области, собранных в период с 2012 по 2015 гг.

Сыворотки исследовали на наличие антител к антигену *R. sibirica* в трех методах: реакция связывания комплемента (РСК), реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ИФА).

Результаты и обсуждение. В РСК исследовано 157 (98,1 %) сывороток, выявлено 30 (19,1 ± 3,2 %) положительных образцов на наличие антител к *R. sibirica*. Из них 7 (4,5 ± 1,7 %) положительных образцов выявлены при исследовании первых сывороток, а 23 (14,7 ± 2,8 %) – при повторном обследовании пациентов в динамике инфекционного процесса. Это свидетельствует, что метод недостаточно чувствителен на ранней фазе заболевания. Данные о сроках от присасывания клеща до взятия первой сыворотки отсутствуют, что не позволяет сделать определенных выводов по этому вопросу.

Из 57 сывороток, исследованных в РНИФ с антигеном *R. sibirica*, положительные результаты выявлены в 23 (40,4 ± 6,6 %) случаях, а с антигеном *R. raoultii* – 19 (33,3 ± 6,3 %). Параллельно проанализировали результаты РСК и РНИФ с различными антигенами, 30 из которых – положительные хотя бы в одной реакции. Исследование двумя методами выявило сероконверсию в титрах 1/40–1/80, но в большинстве случаев положительные результаты в РСК совпадали с РНИФ с антигеном *R. sibirica*.

Методом ИФА для обнаружения противориккетсиозных антител классов IgM и IgG был исследован 121 образец сыворотки крови. Установили, что 103 (84,0 ± 3,6 %) пробы были положительны. IgM выявлены в 83 пробах, и 54 содержат IgG. Из них 49 образцов содержали только IgM, 21 образец содержал только IgG, и 33 образца содержали оба иммуноглобулина. Это зависит от того, в какую стадию заболевания было проведено взятие крови для исследования.

Выводы

1. В результате проведенных исследований отмечается достаточно выраженная разница результатов в РСК и РНИФ при использовании го-

мологических антигенов. Для повышения качества результатов РНИФ рекомендуется использовать антигены риккетсий, циркулирующих в эндемичном регионе.

2. Непрямой твердофазный вариант иммуноферментного анализа является высокочувствительным и специфичным методом обнаружения антител к антигенам риккетсий.

3. Применение экспериментальных иммуноферментных тест-систем для обнаружения антител классов IgM и IgG к антигену *R. sibirica* в парных сыворотках крови позволяет верифицировать диагноз КР у больных в большинстве случаев, в том числе при отрицательных результатах РСК.

4. Получены новые данные, свидетельствующие о контакте с риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки населения, проживающего на территории Омской области.

Таким образом, результаты апробации различных методов выявления антител к риккетсиям в Омской области служат, на наш взгляд, обоснованием для использования в серологической диагностике РНИФ и ИФА с антигеном соответствующих видов риккетсий.

ЮДАЕВА О.С.

МЕРОПРИЯТИЯ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНЫХ УСЛОВИЙ ТРУДА ПРОВОДНИКОВ ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены»
Роспотребнадзора,
Москва

Стратегией охраны здоровья населения РФ на период 2013–2020 гг. предусмотрены мероприятия по охране труда, укреплению здоровья работающего населения с целью сохранения трудового потенциала и создания условий для экономического роста страны.

Известно, что около 20 % стоимости основных фондов железных дорог приходится на вагонный парк, и примерно такую же долю составляет персонал (60–80 % – женский труд), занятый в обслуживании и техническом содержании пассажирских вагонов в эксплуатации.

Профессия проводника пассажирского вагона является одной из самых массовых в пассажирском комплексе железнодорожного транспорта и составляет более 41 тыс. работников, при этом условия их труда в вагонах старой и новой постройки до настоящего времени остаются недостаточно изученными.

Для проводников степень вредности производственных факторов находится в определенной

зависимости от типа вагона, его технического и гигиенического состояния, а также от маршрута, по которому следует состав поезда.

Многолетними исследованиями специалистов института железнодорожной гигиены установлено, что воздействие производственных факторов физической, химической, биологической и психофизической природы вызывает у работников респираторные заболевания, повышенную аллергическую реактивность, изменение слуховой чувствительности и рост уровня общей заболеваемости.

Проводники относятся к категории «разъездных» профессий, причем, большее число проводников заняты в длительных поездках, перемещаясь от трех до семи суток.

Проводимые в ФГУП ВНИИЖГ Роспотребнадзора исследования условий труда и заболеваемости проводников пассажирских вагонов (Прохоров А.А., Кудрин В.А., 1997) свидетельствуют, что данные показатели связаны не только с воз-

растными особенностями, но и с характерными факторами производственно-профессиональной деятельности этой категории работников железнодорожного транспорта. По данным авторов, структура заболеваемости имеет ряд отличий: у проводников преобладают болезни органов дыхания, органов кровообращения, костно-мышечной системы, травмы и аллергические заболевания.

Основными причинами формирования неблагоприятных санитарно-гигиенических условий труда проводников являются эксплуатация вагонов с отсутствием отдельных элементов систем жизнеобеспечения, недостаточность средств механизации и автоматизации производственных операций, нерациональные объемно-планировочные решения, неэффективная организация воздухообмена, неудовлетворительное санитарно-бытовое обслуживание, несоблюдение рациональных режимов труда, отдыха и питания.

Результаты анализа социологического исследования проводников пассажирских вагонов указывают на наличие объективных условий и факторов риска, способствующих возникновению острых и хронических заболеваний у изучаемой категории работников – влияние ряда факторов производственной и бытовой среды в период круглосуточного пребывания на подвижном составе (микроклимат, шум, вибрация, ультразвук, освещенность, химические вещества), физические

нагрузки и значительное нервно-эмоциональное напряжение, неупорядоченный режим труда, чередование ночных и дневных смен, неблагоприятные санитарно-бытовые условия (недостаточная двигательная активность (гипокинезия), постоянное нарушение режима питания, сна, отдыха, отсутствие нарушения условий личной гигиены). Отмечены недостатки в организации обеспечения возможности восстановления физиологических и психических функций.

В общем объеме заболеваемости проводников определенно можно выделить группу болезней, связанных с особенностями их труда: ОРВИ, грипп, ангина, болезни нервных сплетений, остеоартриты, радикулит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, острый гастрит, гнойничковые и грибковые поражения кожи.

При реализации комплекса мероприятий по оборудованию новых вагонов и вагонов после капитального и капитально-восстановительного видов ремонта системами кондиционирования, обеззараживания, отопления, экологически чистыми туалетными комплексами, современными отделочными и экипировочными материалами; по созданию в вагонах улучшенных санитарно-бытовых условий, обеспечению комфортной спецодеждой, регламентации режимов труда и отдыха – за пятилетний период удалось перевести во 2 класс условий труда дополнительно 22 % проводников.

ЮДАЕВА О.С.¹, КОРОЛЕВА А.М.²

ВЛИЯНИЕ ЦВЕТА В ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНАХ НА ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПАССАЖИРОВ И ПОЕЗДНЫХ БРИГАД

¹ ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены»
Роспотребнадзора,
Москва

² ФГБОУ ВО «Российский университет транспорта» Российская открытая академия транспорта,
Москва

Статья посвящена влиянию цвета в пассажирских вагонах локомотивной тяги на психофизиологическое состояние пассажиров и поездных бригад. В настоящее время внутреннее оформление вагонов выполняется в соответствии с требованиями СП 2.5.1198-03 пункты 5.1.45–5.1.50, в которых указано «при оформлении вагонов используются три группы цветов: основные, вспомогательные и акцентные».

В действующих санитарных правилах даны рекомендации по использованию и сочетанию п.5.1.49: «при внутреннем цветовом оформлении

необходимо учитывать функциональное назначение окрашиваемых объектов, подбор цвета должен производиться с учетом их гармоничного сочетания».

Требованиями санитарных правил не учтено влияние цвета на психофизиологическое состояние пассажиров и в большей степени на проводников, т.к. вагон для них является временным жилищем при осуществлении дальних (до 7 суток) перевозок.

Анализируя многолетние психофизиологические исследования специалистов института

железнодорожной гигиены установлено, что цвета влияют на человека, как благоприятно (спокойствие, расслаблению, трудоспособности и т.д.), так неблагоприятно (агрессия, страх, депрессия и т.д.).

Построение реалистических изображений включает как физические, так и психологические процессы. Свет, то есть электромагнитная энергия, после взаимодействия с окружающей средой попадает в глаз, где в результате физических и химических реакций вырабатываются импульсы, воспринимаемые мозгом.

Человеческий глаз представляет собой сложную систему. Он имеет почти сферическую форму с диаметром около 20 мм. Воспринимаемый свет с помощью гибкого хрусталика фокусируется на сетчатке глаза, в которой есть два типа рецепторов: колбочки и палочки. В центре задней полусферы глаза собрано 6–7 млн. колбочек, чувствительных только к сравнительно высоким уровням освещенности, причем каждая из них присоединена к отдельному нерву. Колбочки позволяют различать мелкие детали. В сетчатке также находится 75–150 млн. палочек, чувствительных к очень низким уровням освещенности. К одному нерву присоединено сразу несколько палочек, поэтому они не способны различать мелкие детали. Интересно, что цвет воспринимается только колбочками, то есть при низкой освещенности, когда колбочки теряют свою чувствительность, предметы кажутся серыми.

Они показывают, что в комнате, окрашенной в сине-зеленый или синий цвет, кажется холоднее на 3–4 °С, чем в комнате с такой же температурой, но окрашенной в оранжевый цвет или цвет охры. А значит, мы должны понимать и учитывать, используя эти цвета в интерьере помещений вагона. Учитывая оптимальные цветовые решения в интерьере вагона, получим показатели по комфортности для пассажиров и работоспособности работников железнодорожного транспорта.

Нами совместно с заводом слоистых пластиков (г. Санкт-Петербург) разработаны дизайн проекты интерьеров пассажирских вагонов различных типов.

С помощью исследований, проведенных по воздействию цвета на психофизиологическое состояние человека, установлено следующее:

- оптимальное расположение голубого цвета
- в верхней плоскости;

- для положительного эффекта в работе желтый цвет необходимо предусмотреть на боковых поверхностях;

- придание уверенности и спокойствия человеку оранжевый цвет необходимо использовать в нижней части помещения.

Аналитический обзор показывает, что каждый спектр цвета вызывает определенные ассоциации с психологическим состоянием организма человека.

Красный – возбуждающий, живой, горящий, ассоциируется с огнем, опасностью.

Оранжевый – празднично-радостный, согревающий, ассоциируется с солнцем, блеском.

Светло-коричневый – теплый, сухой, земной.

Темно-коричневый – по-земному твердый, постоянный, ассоциируется со скрытностью, молчаливостью, сдержанностью.

Желтый – стимулирующий, легкий, общительный.

Желто-зеленый – жизнерадостно-свободный, символ ясности духа и скромности.

Светло-зеленый – нежный, кроткий, ассоциируется с цветением.

Темно-зеленый – цвет природы, естественный, облегающий, надежный, ассоциируется с безопасностью, материнством.

Яркий зеленый – естественный, но назойливый и требовательный, ассоциации с прохладой, сыростью, покоем.

Зелено-голубой – далекий, отвлеченный, ассоциируется с водой, льдом, холодом.

Голубой – ассоциируется с небесным простором, ясностью и тишиной.

Синий – углубленный и сдержанный.

Светло-фиолетовый – болезненный, заколдовывающий, тяжелый, ассоциируется с меланхолией.

Фиолетовый – беспокойный и отягощающий.

Пурпурно-фиолетовый светлый – нежный, бесильный, удаляющийся.

Пурпурно-красный – сильный, могущественный, крепкий, ассоциации с кровью, силой, могуществом.

Проведенный анализ позволил сделать вывод о необходимости экспертного подхода к применению цветовых решений при строительстве и проведении капитальных видов ремонта пассажирских вагонов с целью улучшения комфортности проезда пассажиров и обеспечения безопасных условий труда проводников.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПОДКОНТРОЛЬНОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ САНИТАРНО-ТЕХНИЧЕСКИХ СИСТЕМ ПАССАЖИРСКИХ ВАГОНОВ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД

¹ ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены»

Роспотребнадзора,
Москва

² ФГБОУ ВО «Российский университет транспорта» Российская открытая академия транспорта,
Москва

С начала внедрения экологически чистых туалетных комплексов замкнутого типа (ЭЧТК) на российской сети железных дорог в 2004 г. к 2017 г. системами ЭЧТК по данным АСУПВ оборудовано 8 334 вагона, что составляет 42 % парка пассажирских вагонов. В 2017 г. АО «Федеральная пассажирская компания» приняла комплексную, целевую программу оборудования вагонов, находящихся в эксплуатации ЭЧТК в условиях депо и вагоноремонтных заводов.

Одной из основных причин выхода из строя санитарно-технического оборудования является ее заморозка. В год фиксируется более 600 выходов из строя оборудования по причине промерзания систем. Среднее время простоя вагона в ремонте после промерзания санитарно-технической системы составляет 60 часов. Статистически, практически каждый вагон, оборудованный системами ЭЧТК, подвергался ремонту после замораживания систем.

Восстановление вагона после промерзания санитарно-технических систем является наиболее сложной операцией ремонта, так как требует существенного вмешательства в системы вагонов. По степени сложности и порядку выхода из строя оборудования можно выделить следующие виды ремонтов.

Отогрев и восстановление сливной магистрали – наиболее простой вид ремонта. Обычно промерзание начинается в сливной магистрали, находящейся в неотопляемом подвагонном пространстве. Самым сложным является возникновение ледяной пробки в трубе выхода из вагона (башне слива магистрали). Основным методом ремонта является отогрев трубопроводов перегретым паром с последующей заменой поврежденных труб.

После промерзания сливных труб вагонов обычно происходит заморозка водяных клапанов, дозаторов и другого оборудования, установленного непосредственно в унитазе. Это происходит из-за расположения унитаза непосредственно на полу с низкими характеристиками теплоизоляции. В случае промерзания систем унитаза проводится замена всех клапанов и оборудования, подвергшегося воздействию низких температур.

Следующим этапом начинаются промерзания трубопроводов и оборудования системы водопод-

готовки (клапана, гидроаккумуляторы, бойлеры, водяные насосы и так далее) пассажирского вагона.

Завершающим этапом этого процесса становится промерзание бака чистой воды и бака-накопителя ЭЧТК.

Итогом промерзания системы становится обычно полная замена трубопроводов, бака чистой воды, всех клапанов, оборудования вакуумной и насосной систем, а также замена баков.

В наиболее сложных случаях заменяется 40 м трубопроводов чистой воды, 30 м сливных трубопроводов, бойлер, водяные насосы, гидроаккумуляторы, клапаны, дозаторы смыва, баки-накопители ЭЧТК. Общая стоимость подобного ремонта может превысить 1,3 млн. рублей, без учета потерь перевозчика от простоя вагона, которые зачастую также значительны.

Проблема предотвращения замораживания санитарно-технических систем вагонов имеет ряд решений, направленных на обогрев и термоизоляцию, сокращение наносимого промерзанием ущерба и полное исключение возможности промерзания. Рассмотрим ряд существующих решений:

1. Предотвращение промерзания – обогрев и теплоизоляция.

Традиционно для предотвращения промерзания труб производители подвижного состава применяют следующие мероприятия:

- размещение водопроводной системы в обогреваемых частях вагона;
- оборудование трубопроводов нагревательными кабелями;
- термоизоляция «незащищенных» трубопроводов.

Нагревательные кабели сантехнического оборудования питаются от бортовой электрической сети, таким образом, в случае отключения вагона от электропитания на длительный срок – более 2-х часов, подача энергии на нагревательные элементы прекращается и начинается процесс промерзания сантехнического оборудования вагона.

Для обеспечения работоспособности системы обогрева возможно внедрение дополнительных мероприятий в ходе проведения ремонтов существующих систем и при проектировании нового подвижного состава:

- усиление теплоизоляции пола туалетного помещения для увеличения срока сохранения положительной температуры (полная замена при тяжелых видах ремонта вагона);

- обязательная теплоизоляция и обогрев башни слива ЭЧТК – самое подверженное замерзанию место сантехнической системы;

- теплоизоляция помещений, где размещается сантехническое оборудование, а также запрет на размещение оборудования подверженного замерзанию (бойлера, гидроаккумуляторы, водяные насосы, конденсатоотводчики и так далее) в неотапливаемых помещениях вагонов (тамбуры, надпотолочное пространство);

- установка систем аварийного энергоснабжения обогрева наиболее важных узлов систем водоснабжения или выделение дополнительной мощности аккумуляторных батарей вагонов для обеспечения питанием обогрева сантехнических систем в течение 6–8 часов.

2. Методы минимизации повреждений.

Практически все вагоны, оборудованные санитарно-техническими системами, подвержены промерзанию, в силу отсутствия до настоящего времени технических решений по обеспечению теплоизоляции и обогрева систем в течение 6–8 ч после отключения питания. Вместе с тем, при проектировании нового подвижного состава и проведении ремонта и модернизации существующего возможно внедрение следующих мероприятий:

- Модульность конструкции основных узлов и оборудования санитарно-технической системы для увеличения скорости замены вышедшего из строя оборудования. Все модули должны быть легкодоступны (без разборки обшивки), иметь быстроразъемные соединения (не допускается: соединение модулей по средствам сварки, пайки склеивания и т.д.).

- Целесообразно применение металлопластиковых труб с быстроразъемными соединениями фитингами. Металлопластиковые трубы в меньшей степени подвержены разрывам по сравнению с традиционными металлическими. Также металлопластиковые трубы могут быть соединены с помощью пресс-фитингов, что позволяет избежать повреждения трубы: в случае промерзания воды в системе в первую очередь разрушаются фитинги, сами трубы остаются пригодными для использования и после отогрева вагона не требуют замены. В ходе ремонта ремонтная бригада заменяет только фитинги.

- Дополнительная теплоизоляция и обогрев помещения с рабочими элементами системы водоснабжения. В случае компактного модульного размещения клапанов, реле и прочего оборудования, подверженного промерзанию, возможна дополнительная термоизоляция и организация обогрева при меньшем потреблении энергии.

- Аварийная сигнализация об угрозе замерзания вагона. Аварийная сигнализация может стать

одним из методов оповещения поездной бригады, обслуживающего персонала ПТО и мест отстоя вагонов о достижении критических температур воды в санитарно-технической системе. В существующих вагонах сегодня применяются температурные датчики в баках-накопителях, которые обеспечивают включение системы электрического обогрева бака в случае недостаточной эффективности жидкостной системы отопления. Но данные датчики не связаны с информационной системой вагона. Таким образом, обслуживавший персонал не имеет никакой информации о температуре в сантехнической системе. Даже в случае выведения температурных датчиков на пульт вагона их показаний будет недостаточно для предотвращения замерзания, так как баки промерзают существенно позже, чем остальные элементы системы. Также в пути следования вагоны мало подвержены замерзанию. Наибольшую опасность представляет оставление вагонов при отрицательных температурах без электроснабжения в пунктах формирования и оборота.

Для предотвращения случаев замерзания вагонов в пунктах формирования и оборота возможно внедрение системы аварийной звуковой и световой сигнализации. В случае сохранения жидкости в системе водоснабжения и ее охлаждения до критического уровня сигнализация должна обеспечить срабатывание звуковой и световой сигнализации, что позволит сотрудникам ПТО быстро определить вагон, требующий внимания и обеспечить слив воды или подключение вагона к системе электроснабжения. Также, надзорным подразделениям оператора станет проще определить вагоны, требующие дополнительного разбора причин возникновения критической ситуации.

Для внедрения данной системы необходимо:

- оборудовать вагоны автономными свето- и звуко-информаторами;

- дооборудовать систему трубопроводов в местах скопления воды и наиболее уязвимых для промерзания точках температурными датчиками;

- оборудовать вагоны системой регистрации срабатывания и средствами передачи информации на пульт вагона.

3. Европейская методология полного исключения возможности промерзания системы.

В ЕС существует требование по оборудованию вагонов автоматической системой слива воды в случае падения ее температуры в баке ниже 5 °С. Подобная система обеспечивает аварийный слив всей воды из системы менее чем за 10 минут. Данная система включает в себя: клапан автоматического слива и датчики температуры и работает независимо от системы отопления баков и обогрева труб.

По мнению авторов, внедрение подобной системы и адаптация данной системы для условий эксплуатации в РФ позволит сократить случаи промерзания вагонов до минимума.

Гарантией исключения случаев промерзания вагонов может стать только аварийное удаление воды из системы водоснабжения в случае угрозы ее промерзания, система сигнализации о критической температуре воды позволит существенно сократить случаи ненадлежащего обслуживания вагонов, а конструктивные решения по теплоизо-

ляции и отоплению обеспечат дополнительное время до срабатывания аварийных систем вагона. Комплексное внедрение всех методов предотвращения промерзания вагонов гарантированно исключит большинство случаев промерзания, превратив проблему массовых проблем выхода из строя в единичные случаи отказов.

ЮДАЕВА О.С.¹, АКСЕНОВ В.А.², АКСЕЛЬРОД В.А.², АЛЕХИН С.Ю.²,
КАНУННИКОВ О.В.²

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ЕДИНОГО РЕГЛАМЕНТА ЖИЗНЕННОГО ЦИКЛА САНИТАРНО-ТЕХНИЧЕСКИХ СИСТЕМ, УСТАНОВЛЕННЫХ НА ПОДВИЖНОМ СОСТАВЕ

¹ ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт железнодорожной гигиены»

Роспотребнадзора,
Москва

² ФГБОУ ВО «Российский университет транспорта» Российская открытая академия транспорта,
Москва

В статье рассмотрена необходимость использования единого технического регламента при проектировании, эксплуатации и обслуживании санитарно-технических систем. Предложена общая терминология и рекомендована структура норм для обеспечения сквозного проектирования, эксплуатации и технологии обслуживания санитарно-технических систем подвижного состава. В ходе работы проведен анализ российской и европейской нормативно-правовой базы, рекомендаций ведущих мировых перевозчиков и опыт эксплуатации подвижного состава, оборудованного системами ЭЧТК в Российской Федерации и Европейском Союзе.

Проведен анализ норм EN15380-2, UIC Code 563, EN 13272, EN 997, EN 16362, TSI PRM, а также свода рекомендации EuroSpec (для операторов: DB, SNCF, ÖBB, DCB, SBB, N). Для Российской Федерации: ТР ТС 001/2011 (далее ТР ТС), ГОСТ Р 55182-2012 (далее ГОСТ), ТУ, ТЗ на отдельные вагоны, Санитарные правила и нормы СП 2.5.1198-03 (далее СП), Инструкции по эксплуатации.

В Европейском союзе, с целью приведения в единый порядок требований железных дорог различных стран-участниц ЕС, унификация и стандартизация были жизненно важны для возможности «сквозного» сообщения внутри ЕС, что и было сделано. Основой унификации стала введенная в 1998 г. система требований интероперабельности (совместимости) систем железных дорог ЕС – TSI. Частным случаем может быть требование по применению однотипных заправочных горловин и унификации мест их расположения.

После анализа российской нормативной документации, технических заданий на проектирова-

ние подвижного состава различных производителей было выявлено, что не существует «сквозного» регламента или свода рекомендаций, позволяющих эксплуатирующей организации получить санитарно-техническую систему, удовлетворяющую минимально необходимым требованиям унификации, надежности, ремонтпригодности.

В настоящий момент собственникам подвижного состава (АО «ФПК», ЦДМВ, ДОСС, ЗАО «ТКС» и т.д.) крайне сложно контролировать разрозненные требования ГОСТ, СП, а также многочисленные отраслевые документы и стандарты. За последнее десятилетие появилось более пятнадцати новых моделей пассажирского подвижного состава, на которых установлено более десяти различных моделей санитарно-технического оборудования. В силу конструктивных особенностей подвижного состава, развития технологий санитарно-технических систем невозможно установить одну «стандартную систему». Для собственников подвижного состава целесообразно внедрить систему единого технического регламента, который позволит унифицировать процессы проектирования, эксплуатации и обслуживания различных систем.

При формировании единого регламента простое «копирование» сложившейся системы европейских или иных других норм в Российской Федерации невозможно, в силу особенностей железных дорог: высокая, относительно европейских дорог, потребность в унификации, существенное отличие по климатическим нормам, подходу к обслуживанию подвижного состава и так далее. Таким образом, целесообразно раз-

работать единый регламент, содержащий общую трактовку европейских и российских норм, требований и рекомендаций по санитарно-техническим системам вагонов.

Единый регламент должен распространяться на все типы существующего и перспективного пассажирского подвижного состава. Регламент должен описывать только одну систему вагона, что позволит однозначно увязать все элементы жизненного цикла системы, в том числе: проектирование и производство, эксплуатацию, обслуживание и ремонт. Такое разделение позволит выделить три основных раздела документа:

- требования при проектировании;
- требования к эксплуатации;
- требования к обслуживанию и ремонту.

Также регламент должен охватывать все элементы санитарно-технической системы. Таким образом, структура регламента должна содержать следующую иерархию требований:

- общие требования к санитарно-техническим системам;
- требования к туалетному модулю и иным элементам санитарно-технических систем, доступных пассажирам (интерьер);
- требования к водоснабжению и канализации;
- требования к системам управления.

Данное разделение может быть рассмотрено в виде глав каждого из разделов. Таким образом, единый регламент должен содержать следующую матрицу разделов и глав.

В настоящей статье мы подробно рассмотрим первую часть необходимого документа – требования при проектировании. Данный раздел наиболее важный, так как будет описывать основные технические требования, которые должна обеспечить сантехническая система. Данные требования исходят из самого назначения сантехнической системы, обеспечивают ее работоспособность и унификацию, как со внутренними системами вагона (энергопотребление), так и с внешними интерфейсами (системы заправки, удаления стоков, промывки).

В данной статье предложена структура регламента и общие положения, которые должны быть включены в регламент по проектированию подвижного состава. В частности: предложения в части унификации элементов санитарно-технических систем, борьбы с замерзанием вагонов, расчету потребности в резервуарах. Внедрение предложенного регламента позволит существенно сократить затраты собственников подвижного состава на всех этапах жизненного цикла вагонов.

**ЯКОВЧИЦ Н.В.¹, АДЕЛЬШИН Р.В.¹, МЕЛЬНИКОВА О.В.¹, НОСКОВ А.К.¹,
БОТВИНКИН А.Д.², АНДАЕВ Е.И.¹**

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ВИРУСА БЕШЕНСТВА НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Иркутск

Ухудшение эпидемиологической ситуации по бешенству в Сибири и приграничных районах сопредельных стран обуславливает актуальность выявления особенностей распространения возбудителя на данной территории.

Целью исследования является установление филогенетических отношений между изолятами вируса, выделенными во время эпизоотий бешенства среди диких и домашних животных. Было расшифровано 22 нуклеотидных последовательности гена нуклеопротеина (N): 11 штаммов, изолированных в 2011–2012 гг. в Республике Бурятия, 6 – в Республике Хакасия и 5 – в Забайкальском крае в 2015–2016 гг. Для сравнения из базы данных GenBank отобрано 90 последовательностей вирусов с территории Монголии и граничащих с ней регионов России и Китая, выделенных в 1987–2014 гг.

Так как для ряда штаммов отсутствуют полные последовательности гена N, в анализе использованы фрагменты длиной 1110 п.н., которые выравнивались в программе BioEdit 7.0.5.3 (Hall T. A., 1999). Для построения простирающегося древа использовали программу SplitsTree4 (Huson D., Bryant D., 2006).

По результатам филогенетического анализа установлено, что большинство последовательностей из Монголии 2005–2008 гг. образуют компактную группу (за исключением последовательностей вирусов arctic-like типа). С ней тесно связаны фрагменты гена N вирусов бешенства, изолированных в 2008–2012 гг. на территориях республик Бурятия и Тыва, Забайкальского Края, а также в автономном регионе Внутренняя Монголия (Китай) в 2011–2014 гг. При этом отмечена

значительная филогенетическая связь между штаммами с двух последних административных территорий. Фрагменты гена N изолятов из Республики Бурятия образовали близкородственную группу, значительно удаленную от монгольских. Тувинские штаммы 2008–2011 гг. оказались тесно связаны с монгольскими образцами: генетическая дистанция оказалась в два раза короче, чем у бурятских. В эту группу вошли фрагменты гена N изолятов из Монголии 2005 и 2008 гг., а два тувинских были отнесены в «монгольскую» группу. Нуклеотидные последовательности вирусов бешенства, выделенных в Хакасии, оказались филогенетически близки изолятам из Красноярского края.

Интересные результаты получены при анализе филогенетического положения фрагментов гена N штаммов вируса бешенства, выделенных в Республике Тыва в последние десятилетия XX в. Образцы 1987 и 1989 гг., группируются с образцами

из Омской области и Республики Алтай. Изолят 1996 г. филогенетически близок к штаммам из Красноярского края и Хакасии 2008–2016 гг. Полученные результаты позволяют предполагать, что заносы бешенства в Республику Тыва в конце XX в. происходили разными путями, как из Западной Сибири, так и с территории Монголии.

Таким образом, на основе данных филогенетического анализа можно предположить, что занос вируса, вызвавшего вспышки бешенства среди диких и домашних животных в республиках Бурятия, Тыва и Китае (Внутренняя Монголия), произошел в последнее десятилетие с территории Монголии. В то же время, неблагоприятная эпидемиологическая ситуация, сложившаяся на территории Республики Хакасия и Красноярского края в последние годы, не может быть объяснена заносом вируса с указанной территории. Наиболее вероятной причиной является активизация природного очага, существовавшего там ранее.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А		Валеев А.А.	19
Абрамова Е.Г.	41	Вербов В.Н.	28
Абрамова Н.В.	162	Вержущая Ю.А.	89
Авдеева Н.Г.	50	Верхозина М.М.	122
Агеева Н.П.	91	Вещемова Т.Е.	30
Адельшин Р.В.	126, 169	Виноградова А.И.	31
Адугюзелов С.Э.	11	Витязева С.А.	149
Аксельрод В.А.	166, 168	Вишняков В.А.	32, 43, 92
Аксенов В.А.	168	Водопьянов А.С.	82, 85
Алексеева Л.П.	51	Водопьянов С.О.	85
Алексейчик И.О.	12	Водяницкая С.Ю.	85
Алехин С.Ю.	166, 168	Водянова М.А.	34
Ализаде Ю.С.	13	Войткова В.В.	40, 69
Аликберов М.Х.	14, 15	Воронина Е.В.	35, 38, 137
Алленов А.В.	42	Вуйцик П.А.	68
Андаев Е.И.	169		
Андреев С.В.	118	Г	
Андреева И.С.	95	Гаврилова Т.А.	122
Анисенкова Е.В.	147	Гаврилова Ю.К.	41
Анисимов А.П.	130	Гаева А.В.	41, 50
Антипова О.В.	16	Гаевская Н.Е.	102, 141
Антонов А.С.	18	Генералов С.В.	41
Антонец Д.В.	131	Герасименко Е.В.	54
Антонов А.С.	144	Гладких А.С.	103
Афанасьев А.С.	59	Глушко Н.И.	19
		Гмошинский И.В.	158
Б		Голосев Ю.А.	55
Бабайкина О.Н.	35, 38, 137	Гольдапель Э.Г.	42, 43, 135
Бадамшина Г.Г.	19	Горяев Д.В.	28, 126
Бадмаев А.А.	67	Громова А.В.	45
Байдакова Е.В.	20	Громова О.В.	50
Бакиров А.Б.	64, 81		
Балахонов С.В.	69, 79, 92, 136, 149	Д	
Балашов С.Ю.	75	Данчинова Г.А.	23
Баранникова Н.Л.	106	Даукаев Р.А.	81
Басов Е.А.	32	Дерябин А.Н.	46
Баташев В.В.	85	Джиоев Ю.П.	67
Бахмудов Г.Г.	15	Димидова Л.Л.	151
Баязитова А.А.	22	Дмитриева Г.М.	28, 48, 126
Белова И.В.	140	Дмитрюкова М.Ю.	49
Березкина Г.В.	58, 162	Дубровина В.И.	40, 69, 106
Богун А.Г.	130	Дугаржапова З.Ф.	43, 136
Болотова Н.А.	23	Дуракова О.С.	50
Бондарева О.С.	24		
Борисенко А.Ю.	26	Е	
Бородай Н.В.	12	Евдокимова В.В.	51
Бородина Т.Н.	114	Евсеева И.С.	34
Ботвинкин А.Д.	169	Евченко Ю.М.	160
Бочалгин Н.О.	27	Ежова М.И.	82
Брагина Е.А.	83	Ермоленко К.Д.	52
Букин Ю.С.	67	Ермолова Н.В.	54
Буланова М.И.	145		
Буряк Г.А.	95	Ж	
Бутакова Л.В.	28, 122	Живцов О.П.	137
Бухаринов А.А.	75	Жилин В.Г.	85
Быстрова Т.Н.	16	Жильцова А.Ю.	54
		Жуков К.В.	157
В			
Ваганова А.Н.	29		

З		Л	
Забашта М.В.	114	Лазаренко Е.В.	54
Заиченко И.Е.	35, 38, 137	Лебедев М.Ю.	137
Закревская А.	52	Левченко Д.А.	82
Замарина Т.В.	55, 148	Леденева М.Л.	24
Заручейнова О.В.	29	Лемасова Л.В.	12, 24
Захаров М.В.	55, 57	Леонова В.С.	150
Захарова И.Б.	18, 144	Леонтьева С.А.	83
Захлебная О.Д.	149	Ливанова Л.Ф.	50
Згода В.Г.	158	Лихачев И.В.	84
Зеликман С.Ю.	58	Логвин Ф.В.	85
Земскова С.С.	19	Логвиненко О.В.	70
Зиатдинов В.Б.	19	Лучинин Д.Н.	86
Зибарев Е.В.	59	Любимова Н.Е.	98
Злобин В.И.	67		
		М	
		Мазепа А.В.	79, 135
Иванова А.А.	43	Майская Н.В.	130
Имангалиев Б.С.	60	Мамаева Т.А.	154
Исаева Г.Ш.	19	Манзарова Э.Л.	23
		Медяник И.М.	53
		Мелентьев А.В.	99
		Мельникова Г.Н.	118
		Мельникова О.В.	169
		Мигунова Т.А.	121
		Миронова Л.В.	27, 103
		Мишанькин Б.Н.	51
		Мозлов Г.А.	160
		Моисеева А.А.	95
		Молчанова Е.В.	87
		Морозов И.М.	89
		Морозова О.В.	121
		Морозова С.И.	42
		Мошкин А.Б.	126
		Мышкин В.А.	64
		Н	
		Наумова М.А.	154
		Негоденко А.О.	90
		Незнамова А.В.	91
		Непомнящая Н.Б.	82
		Непомнящих Т.С.	131
		Никитин А.Я.	89
		Никифорова В.А.	145
		Новикова Н.А.	121
		Новицкая И.В.	113
		Ноздрин Г.А.	45
		Носков А.К.	92, 169
		Носов Н.Ю.	94
		О	
		Олейников И.П.	85
		Орехов И.В.	114
		Орешкина Н.Д.	48
		Острик А.А.	11
		Охлопкова О.В.	95
		П	
		Перевалова М.А.	79, 92
		Пережогин А.Н.	28
		Перетолчина Н.П.	97
И			
Иванова А.А.	43		
Имангалиев Б.С.	60		
Исаева Г.Ш.	19		
К			
Кадникова Л.А.	130		
Казанова В.Б.	122		
Калинин А.В.	61, 73		
Канаева О.И.	63		
Канунников О.В.	168		
Каримов Д.Д.	64		
Каримов Д.О.	64, 81		
Карцев Н.Н.	65		
Катаева Л.В.	109		
Киреев М.Н.	41, 50		
Кириллова М.А.	19		
Киселев Д.О.	67		
Кисличкина А.А.	130		
Князев Д.И.	116, 117		
Ковалев Д.А.	142		
Комарова С.В.	68		
Кондратенко Т.А.	85		
Корнева А.В.	40		
Корнилов М.С.	150		
Королева А.М.	164		
Корытов К.М.	40, 69		
Кострыкина Т.В.	126		
Костюченко М.В.	70		
Котенева Е.А.	72, 73		
Кошурников Д.Н.	75		
Кравец Е.В.	136		
Крылова И.В.	76		
Кряжев Д.В.	78		
Кудан П.В.	158		
Кудояров Э.Р.	64		
Кузин Д.Ю.	42		
Кузнецова К.Ю.	34		
Кузьминова В.А.	26		
Кулаков М.Я.	113		
Куликалова Е.С.	32, 79, 135		
Куличенко А.Н.	111		
Кулова Е.А.	116, 117		
Куляшова Л.	52		
Кумпан Л.В.	162		
Курганова О.П.	28		
Курилов М.В.	81		

Ч		Щ	
Чемисова О.С.	110, 128	Щелкунов С.Н.	131
Чепижко Т.Г.	126		
Черепанова Е.А.	153		
Чеснокова М.В.	42		Ю
Чехляева Т.С.	154	Юдаева О.С.	163, 164, 166, 168
Чуланов В.П.	100	Юрьева О.В.	106
Ш		Я	
Шарабрин С.В.	156	Яковчиц Н.В.	169
Шаракшанов М.Б.	32, 92	Якубицкий С.Н.	131
Шахов Л.О.	157		
Швагер М.М.	85		
Шестопалова Т.Н.	118		
Шипелин В.А.	158		
Шипко Е.С.	51		В
Шкарлет Г.П.	160	Bui T.L.A.	18, 144
Шпак И.М. 18,	144		
Штрек С.В.	162		Н
Шульга С.В.	154	Ngo T.N.	18, 144

Научное издание

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ, МИКРОБИОЛОГИИ И ГИГИЕНЫ

Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции
молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора

Под редакцией д.м.н., проф. А.Ю. Поповой

Корректор *С.В. Булкина*
Оригинал-макет *С.В. Булкина*
Обложка *К.А. Фалеев*

Сдано в набор 09.10.2017. Подписано в печать ##.11.2017
Формат 60x84/8. Усл. печ. л. 20.2. Тираж 300 экз. Заказ 052-17
Отпечатано в ФГБНУ ИНЦХТ
Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. (395-2) 29-03-37.
E-mail: arleon58@gmail.com
